T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

SIÇANLARDA ALT EKSTREMİTE İSKEMİ-REPERFÜZYON MODELİNDE SİLOSTAZOL VE RİVAROKSABAN KORUYUCU ETKİSİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

CEREN SAYARER

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ

PROF. DR. ABİDİN CENK ERDAL

KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

UZMANLIK TEZİ

İZMİR 2023

MART 2023

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

SIÇANLARDA ALT EKSTREMİTE İSKEMİ-REPERFÜZYON MODELİNDE SİLOSTAZOL VE RİVAROKSABAN KORUYUCU ETKİSİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

CEREN SAYARER

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ

PROF. DR. ABİDİN CENK ERDAL

KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

UZMANLIK TEZİ

Bu araştırma DEÜ Bilimsel Araştırma Projesi Tarafından TSA-2022-2647 Proje No İle Desteklenmiştir.

İZMİR 2023

MART 2023

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimime bilgi, deneyim ve yol göstericilikleriyle büyük katkıda bulunan değerli hocalarım sayın

Prof. Dr. Öztekin OTO, Prof. Dr. H. Hüdai ÇATALYÜREK,
Prof. Dr. Ş. Baran UĞURLU, Prof. Dr. E. Erdem SİLİSTRELİ,
Prof. Dr. O. Nejat SARIOSMANOĞLU, Prof. Dr. D. Özalp KARABAY,
Prof. Dr. S. Kıvanç METİN, Prof. Dr. Serdar BAYRAK,
Doç. Dr. Tuğra GENÇPINAR' a, ayrıca tezimi yöneten değerli danışman hocam
Prof. Dr. A. Cenk ERDAL' a

Asistanlığım boyunca beraber çalıştığım asistan arkadaşlarıma, tüm servis ve yoğun bakım hemşirelerine ve personellerine, ameliyathane hemşire, perfüzyonist ve personellerine, poliklinik çalışanlarına

Tez çalışmam boyunca destekleri ve emekleri için Biyokimya Ana Bilim Dalı öğretim üyeleri Doç. Dr. Özlem GÜRSOY DORUK ve Doç. Dr. Tuncay KÜME' ye

Zorlu asistanlık yıllarında sabrını ve desteğini eksik etmediği için değerli eşim Gökhan SAYARER' e, varlığıyla güç veren oğlum Cemal Kaya SAYARER' e

Sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ŞEKİLLER, GRAFİKLER VE TABLOLAR DİZİNİ V
KISALTMALAR VI
ÖZET 1
ABSTRACT 2
1.GİRİŞ-AMAÇ 4
2.GENEL BİLGİLER 6
2.1. İSKEMİ - REPERFÜZYON 6
2.1.1. Patofizyoloji 6
2.1.2.I/R Klinik Bulguları 10
3.BİYOKİMYASAL BELİRTEÇLER 13
3.1. 8-HİDROKSİ-2 DEOKSİGUANOSİNE (8-OHDG) 13
3.2. MALONDİALDEHİT (MDA) 14
3.3. OKSİDE VE REDÜKTE GLUTATYON 15
4.GEREÇ VE YÖNTEM 16
4.1.DENEY PROSEDÜRÜ 17
4.2.DOKU HOMOJENİZASYONU, ELİSA VE HPLC PROSEDÜRÜ 18
4.3.İSTATİSTİKSEL YÖNTEM 19
5.BULGULAR 20
5.1.REDÜKTE GLUTATYON 20
5.2.OKSİDE GLUTATYON 25
5.3.MALONDİALDEHİT 29
5.4.8OHDG 33
6.TARTIŞMA 37
7.SONUÇ 42
8.KAYNAKÇA 43

ŞEKİLLER, GRAFİKLER VE TABLOLAR DİZİNİ

Şekil 1 İskemik hasar patofizyolojisi……8
Şekil 2 Reperfüzyon hasarı patofizyolojisi……...9
Şekil 3 Turnike sonrası rat ekstremitesi……18

Grafik 1 Kan redükte glutatyon düzeyleri…….20
Grafik 2 Doku redükte glutatyon düzeyleri……...23
Grafik 3 Kan okside glutatyon düzeyleri……...25
Grafik 4 Doku okside glutatyon düzeyleri…….27
Grafik 5 Kan Mda düzeyleri……...29
Grafik 6 Doku Mda düzeyleri…….31
Grafik 7 Kan 8-OHdg düzeyleri…….33
Grafik 8 Doku 8-OHdg düzeyleri……...35

Tablo 1 Kritik iskemi süreleri…….11
Tablo 2 Kan redükte glutatyon (GSH) tanımlayıcı değerler……...21
Tablo 3 Kan redükte glutatyon (GSH) istatistik…….22
Tablo 4 Doku redükte glutatyon (GSH) tanımlayıcı değerler……23
Tablo 5 Doku redükte glutatyon (GSH) istatistik…… .24
Tablo 6 Kan okside glutatyon (GSSG) tanımlayıcı değerler……..25
Tablo 7 Kan okside glutatyon (GSSG) istatistik…….26
Tablo 8 Doku okside glutatyon (GSSG) tanımlayıcı değerler……27
Tablo 9 Doku okside glutatyon (GSSG) istatistik……..28
Tablo 10 Kan malondialdehit (MDA) tanımlayıcı değerler…….....29
Tablo 11 Kan malondialdehit (MDA) istatistik…….30
Tablo 12 Doku malondialdehit (MDA) tanımlayıcı değerler…….31
Tablo 13 Doku malondialdehit (MDA) istatistik……32
Tablo 14 Kan 8-OHdg tanımlayıcı değerler……...33
Tablo 15 Kan 8-OHdg istatistik……..34
Tablo 16 Doku 8-OHdg tanımlayıcı değer ……35
Tablo 17 Doku 8-OHdg istatistik……36

KISALTMALAR

8-OHdg: 8-hidroksi-2 deoksiguanosine

ATP: Adenozin trifosfat

cAMP: Siklik adenozin monofosfat

ELISA: Enzyme- Linked ImmunoSorbent Assay

GSH: Redükte glutatyon

GSSG: Okside glutatyon

I/R: İskemi reperfüzyon

HPLC: High-performance liquid chromatography

MDA: Malondialdehit

MPTP: mitokondriyal membran permeabilite transition pore

Mb: mioglobulin

ROS: Reaktif oksijen ürünleri

O2: oksijen

TNF-α: tümör nekroz faktör- α

SIÇANLARDA ALT EKSTREMİTE İSKEMİ-REPERFÜZYON MODELİNDE SİLOSTAZOL VE RİVAROKSABAN KORUYUCU ETKİSİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Tıpta Uzmanlık Tezi

CEREN SAYARER

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı

ÖZET

Kalp ve damar cerrahisinde alt ekstremite iskemi-reperfüzyon hasarı hem sistemik hem lokal komplikasyonları ile önemli bir mortalite ve morbidite sebebidir. Ekstremite ilişkili komplikasyonların büyük çoğunluğu mevcut periferik arter hastalığı olan hastalarda emboli veya tromboz zemininde gözlenmektedir. Silostazol periferik arter hastalığında yürüme mesafesini arttırdığı kanıtlanmış trombosit agregasyonunu baskılayan ve aynı zamanda bir vazodilatör olan antiagregan ajandır. Revaskularizasyon yapılmış periferik arter hastalarında aspirin ile birlikte silostazol kullanımının ekstremite ilişkili komplikasyonları azalttığı ve greft açık kalma oranını arttırdığı bilinmektedir. Rivaroksaban yeni nesil bir oral antikoagulandır ve periferik arter hastalığında revaskülarizasyon sonrası kullanımının kardiyovasküler ve ekstremite ilişkili komplikasyonları azalttığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Bu çalışmada bu iki ajanın alt ekstremite iskemi-reperfüzyon modelinde koruyucu etkilerini araştırdık.

28 adet wistar albino dişi rat, sham grubu (herhangi bir işlem yapılmayan), kontrol grubu (iskemi-reperfüzyon grubu), rivaroksaban grubu (10 gün süreyle 3mg/kg), silostazol grubu (10 gün süreyle 10mg/kg) olmak üzere dört gruba ayrıldı(n:7). Onuncu günün sonunda sol arka bacak turnike yöntemi ile bir saat iskemi yaratıldıktan sonra iki saat reperfüzyon yapıldı. Deney prosedürünün sonunda kan ve doku örnekleri alınıp hayvanlar sakrifiye edildi. Kan ve doku örneklerinde ELİSA yöntemi ile 8-OHdg, HPLC yöntemi ile MDA, GSH, GSSG marker düzeyleri incelendi.

Sham ve kontrol(I/R) grubu arasında hem doku hem serumda çalışılan tüm marker düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Bu bulgu başarılı I/R modeli oluşturulduğunu gösterdi. Grupların ikili karşılaştırmalarında silostazol ve rivaroksabanın I/R hasarına karşı koruyucu etkilerinin olduğu görüldü. Rivaroksabanın özellikle iskelet kası korumada silostazole göre daha üstün olduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler: iskemi/reperfüzyon hasarı, oksidatif stres, deneysel çalışma, 8-OHdg, periferik arter hastalığı

COMPARING THE PROTECTIVE EFFECTS OF CILOSTAZOL AND RIVAROXABAN ON RAT LIMB MUSCLE ISCHEMIA REPERFUSION MODEL

ABSTRACT

In cardiovascular surgery, lower extremity ischemia-reperfusion injury is an important cause of mortality and morbidity with both systemic and local complications. The majority of extremity-related complications are observed in patients with existing peripheral artery disease, on the basis of embolism or thrombosis. Cilostazol is an antiaggregant agent that has proven to increase walking distance in peripheral arterial disease, suppresses platelet aggregation and is also a vasodilator. It is known that the use of cilostazol together with aspirin reduces extremity-related complications and increases the rate of graft patency in peripheral artery patients who have undergone revascularization. Rivaroxaban is a new generation oral anticoagulant and it is known with new studies that its use after revascularization in peripheral arterial disease reduces cardiovascular and extremity-related complications. Therefore, in this study, we investigated the protective effects of these two agents in the lower extremity ischemia-reperfusion model.

28 Wistar albino female rats were divided into four groups as sham group (no procedure was performed), control group (ischemia-reperfusion group), rivaroxaban

group (3mg/kg for 10 days), cilostazol group (10mg/kg for 10 days).(n:7) At the end of the tenth day, after one hour of ischemia was created with the left hind leg tourniquet method, reperfusion was performed for two hours. At the end of the experimental procedure, blood and tissue samples were taken and the animals were sacrificed. In blood and tissue samples, 8-OHdg marker levels were analyzed by ELISA method, and MDA, GSH, GSSG marker levels were analyzed by HPLC method.

A statistically significant difference was found between the sham and control (I/R) groups in all marker levels studied in both tissue and serum. This finding indicated that successful I/R modeling was created. In pairwise comparisons of the groups, it was observed that cilostazol and rivaroxaban had protective effects against I/R injury. It was observed that rivaroxaban was superior to cilostazol especially in skeletal muscle protection.

Key Words: 8-OHdg, oxidative stress, peripheral artery disease, experimental study, ischemia-reperfusion injury

1.GİRİŞ-AMAÇ

İskemi reperfüzyon(I/R) hasarı belirli bir süre iskemik kalan bir dokunun reperfüze olmasından sonra çeşitli mekanizmalar sonucu akut inflamasyonundan kaynaklanır. I/R hasarı, birçok klinik durumda karşımıza çıkabilmektedir. Yoğun inflamatuar yanıt, iskemik ve reperfüzyon dönemlerinde meydana gelen fizyolojik, biyokimyasal ve immünolojik değişiklikler nedeniyle lokal ve sistemik etkilere sahiptir. I/R'nin hücresel hasarının sekeli, organ veya uzuv işlevinin kaybına ve hatta ölüme yol açabilir.

Periferik arter hastalığı küresel olarak 200 milyondan fazla insanı etkileyen bir hastalıktır(1). Önleyici antiplatelet tedaviye rağmen periferik arter hastalığı olan hastalar hem sistemik hem ekstremite alakalı aterosklerotik komplikasyonlar açısından risk altındadır(2). Akut embolik ve trombotik oklüzyon periferik arter hastalığı olan hastalarda normal popülasyona göre daha sıklıkla görülmekte olup bu komplikasyonların tedavisi iskemik ekstremitenin reperfüzyonuna ve iskemik hasarın advers sonuçlarını en aza indirgemeye odaklanır.

Tromboz ve emboli akut bacak iskemisinin başlıca sebepleridir. Bunun yanında abdominal aort cerrahisi, travma, ekstremitenin cerrahi revaskülarizasyonu, turnike gerektiren çeşitli ortopedik prosedürler gibi birçok sebep de ekstremitenin iskemi reperfüzyon hasarına yol açabilir. İskemi reperfüzyon hasarı vasküler cerrahide çok yaygın olarak görülen bir komplikasyon olup iskelet kasının akut iskemi reperfüzyon hasarı önemli bir mortalite ve morbidite sebebidir(3). Günlük pratikte hasta bir arteriyel sistemin perfüze ettiği doku, revaskülarizasyon cerrahisi sırasında değişen sürelerle iskemiye maruz kalmaktadır. Bu dokunun I/R sırasında salınan toksik oksidatif ürünler ve inflamatuar mediatörler hem lokal hem sistemik organ hasarı yaratabilir. Ekstremitenin predominant dokusu iskelet kası olup iskemiye karşı en savunmasız olan doku da iskelet kası dokusudur. İskelet kasının iskemi reperfüzyon hasarının sonucunu etkileyen birçok faktör vardır ve hasta morbidite ve mortalitesini en aza indirmek için klinisyenlerin I/R hasarını anlamaları önemlidir. Bu nedenle trombozun indüklediği iskemi öncesi profilaktik tedavi kullanımı önem taşımaktadır.

Tromboflaksi olarak antiagregan ve antikoagulan ajanlar kullanılabilir(4). Antiagregan ajanların platelet adezyonu ve agregasyonunu önlemenin yanında

vasküler düz kas hücrelerini modüle ettiği ve apopitozu indüklediği önceki çalışmalarda gösterilmiştir(5). Antiagregan ajanların antioksidan etkileri de çalışmalarla tanımlanmıştır(6). Benzer olarak antitrombotik ajanlar da yeni trombüs oluşumunu önlemenin yanı sıra büyüme faktörü regülasyonu ve hücre adhezyonunu önleme gibi selüler etkileri ve antioksidatif etkileri mevcuttur(7).

Rivaroksaban faktör Xa inhibisyonu yapan bir oral antikoagulandır. Ek olarak rivaroksaban pro-inflamutuar proteaz aktivasyon reseptör inhibisyonuyla direkt antiinflamatuar özelliklere de sahiptir. Yeni yapılan çalışmalarla endovasküler veya cerrahi olarak revaskülarizasyon yapılan periferik arter hastalarında kardiyovasküler ve ekstremite ilişkili iskemik komplikasyonları azaltmak amacıyla düşük doz rivaroksaban kullanımını gündeme gelmektedir(8). Ayrıca rivaroksabanın myokardiyal iskemi reperfüzyon hasarı sonrası sekonder kardiyovasküler olayları azalltığı yönünde deneysel çalışmalar mevcuttur(9).

Silostazol uluslararası kılavuzlarda periferik arter hastalığında ilk tedavi tercihleri arasında bulunmaktadır(10). Silostazol platelet, arteriyel ve bronşiolar düz kas hücrelerindeki fosfodiesteraz III aktivitesini inhibe ederek intraselüler siklik adenozin monofosfat(cAMP) düzeyini yükseltir. Yükselmiş intraselüler cAMP düzeyi thromboksan A2 üretimini inhibe ederek platelet agregasyonunu inhibe eder. Düz kas hücrelerinden kalsiyum ve kontraktil protein salınımını inhibe ederek vazodilatasyon etkisi yaratır. Silostazolun rat modelinde femoral arter ligasyonu ile indüklenmiş periferik arter hastalığında yürüme bozukluğunun düzeltilmesi üzerine etkisi deneysel olarak gösterilmiştir(11). Ayrıca silostazolun iskemi reperfüzyona bağlı uzak organ hasarını azalttığına, yine iskemi sonrası nöroprotektif ve renoprotektif etkileri olduğuna dair çalışmalar mevcuttur(6). Endovasküler veya cerrahi yöntemle revaskülarizasyon sağlanmış periferik arter hastalarında silostazol kullanımının amputasyonsuz sağ kalım ve uzuv kurtarma oranlarında artış, arteriyel restenoz oranlarında azalma görülmüştür(12)(13). Ek olarak silostazol alan hastalarda yeniden girişim oranlarının düştüğü gösterilmiştir(12).

Bu çalışma modelinde periferik arter hastalığında günlük pratikte sık kullanılan silostazolün ve kullanım endikasyonları yeni yapılan çalışmalarla günden güne artan rivaroksabanın iskelet kası iskemi reperfüzyon hasarı üzerine olan etkilerinin

karşılaştırılmasını amaçladık. Bunun için de iskemi reperfüzyonda meydana gelebilecek değişikleri yansıtabilen; oksidatif stres belirteçleri ve antioksidan savunma düzeyi, iskelet kası hasarını gösterecek markerlar seçilmiştir. Oksidatif hasar düzeyini gösterme amaçlı oksidatif strese bağlı lipid peroksidasyon belirteci olan malondialdehit (MDA), hem serum hem dokuda çalışılmıştır(14). Antioksidan savunmanın değerlendirilmesi için vücudun birincil antioksidan savunmasını oluşturan redükte (GSH) ve okside (GSSG) glutatyon markerları kullanılmıştır(15). Bunun dışında dna baz hasarı belirteci olarak 8-hidroksi-2 deoksiguanozin (8-OHdg) dokuda ve serumda çalışılmıştır(16).

2.GENEL BİLGİLER

2.1. İskemi - Reperfüzyon

İskemi reperfüzyon hasarı klinisyenlerin kalıcı hücre hasarını engellemek ve organ fonksiyonlarını idame ettirmek için anlaması gereken önemli bir durumdur. Akut bacak iskemisi ile başvurup başarılı revaskularizasyon sonrası devam eden alt ekstremite nekrozu 1950lerde ilk iskemi reperfüzyon hasarı ile ilgili raporlara sebep olmuştur(17). Bu ilk raporları takiben kardiyak cerrahi geçiren erişkin hastalarda da bu fenomenin mortalite sebebi olabileceğinden şüphelenilmiş ve çeşitli kanin kardiyak I/R modelleri oluşturulmuştur(18). O zamandan bu yana I/R hasarı kardiyak, vasküler, transplant, rekonstrüktif cerrahilerin yanı sıra travmatik hasar ve kalp yetmezliğinde de gözlenmiştir. I/R hasarının klinik belirtileri iskemik hasar ve reperfüzyon hasarının doğurduğu biyokimyasal sapmaların direkt bir sonucu olarak ortaya çıkar.

2.1.1. Patofizyoloji

2.1.1.1. İskemik Hasar

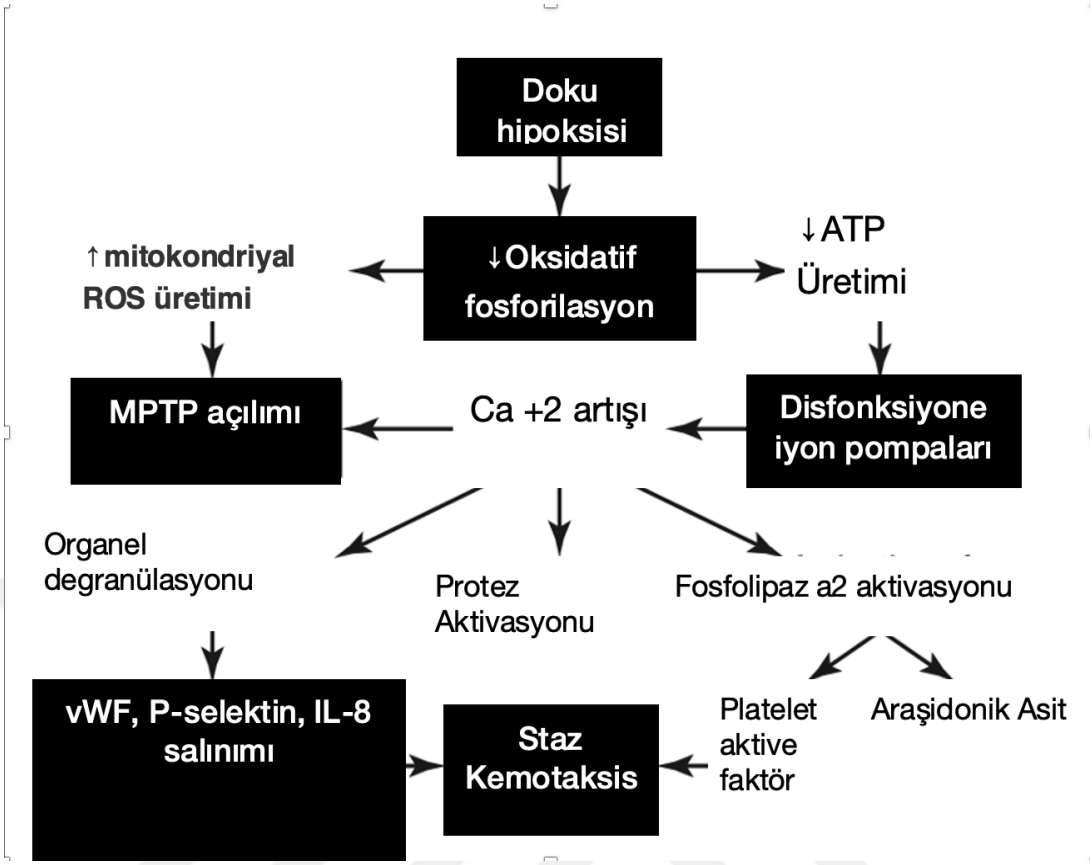
I/R hasarının iskemik fazı, doku hipoksi ya da anoksisi ve mikrosirkülasyonun stazı ile başlar (Şekil 1). İskemik hasarın etkisi, iskemik kalan zamanla ve etkilenen dokunun bazal metabolik ihtiyacıyla değişiklik gösterir. Örneğin jejenumda iskemik

hasar sadece 30 dakikada ortaya çıkarken insan iskelet kas dokusu 2 saate kadar iskemik zamanı tolere edebilir.

Doku iskemisi oksijen (O2) sunumunu azaltır ve mitokondride efektif adenozin trifosfat (ATP) üretilemeyeceğinden hücresel solunumun aerobik mekanizmalarının anaerobik mekanizmalara doğru kaymasına sebep olur. ATP üretimi hücrenin metabolik ihtiyacını karşılayamaz ve bunun sonucu olarak laktik asit seviyesi ve hücre içi pH yükselir. Hücre içi asidoz glikolizi inhibe eder ve pH'ı normal değerine getirmek için Na^+/H^+ kanallarını aktive eder. Mevcut ATP eksikliği sebebiyle Na^+/K^+-ATPase Na^+'u hücre dışına yeterince pompalayamaz. Yüksek hücre içi Na^+, Na^+/Ca^{+2} kanalını inhibe ederek yüksek hücre içi Ca^{+2} seviyelerine sebep olur. Bunun sonucu olarak fosfolipaz A2 gibi indirgeyici enzimler ve calpainler gibi proteazlar aktive olur. Uzamış iskemi hücre membran hasarına ve nekrotik hücre ölümüne yol açar(19).

İskemi sırasında meydana gelen bu değişiklikler miyositlerin endojen antioksidan mekanizmalarını inhibe eder. Reaktif oksijen ürünlerinin (ROS) üretimine ve akümülasyonuna da katkıda bulunur. Yüksek hücre içi Ca ve yüksek pHın mevcut olduğu ortamda mitokondriyal ROS konsantrasyonundaki artma nekrotik hücre ölümünün önemli bir komponenti olan 'mitokondriyal membran permeabilite transition pore' (MPTP) hazırlanmasına katkıda bulunur. İskemi sırasındaki düşük hücre içi ph MPTPnin açılmasını önlerken reperfüzyon sırasında normale dönen ph MPTPnin açılmasına sebep olur. MPTPnin açılması nekrotik hücre ölümünün önemli bir tetikleyicisidir. Doku hasarının derecesinin esas belirleyicisinin iskemi fazındaki ROS birikim derecesi ve dolaylı olarak MPTP düzeyinin olduğunu gösteren yayınlar mevcuttur(20).

Doku hipoksisi hipoksi-adaptif yolakların aktivasyonu ile nötrofil ve makrofajların interstisyuma doğru hareketine sebep olur. Aktive nötrofiller glutamat ve adenin nükleotidleri gibi vasküler endotelial yüzeyde adenozin üretimini tetikleyen moleküler mediatörler salgılar. Aktive lökositler ayrıca önemli proinflamatuar sonuçlar yaratırlar. Nötrofiller endotelial permeabiliteyi ve sitoskeletal düzenlemeyi arttıran solubl faktörler salgılar(21). Aktive makrofajlardan salınan tümör nekroz faktör- α(TNF-α), NF-κB gibi moleküller proapopitotik ajan olarak rol alırlar(22).



Şekil 1: İskemik hasar patofizyolojisi

Kaynak: Rutherford's Vascular Surgery and Endovascular Therapy

2.1.1.2. Reperfüzyon

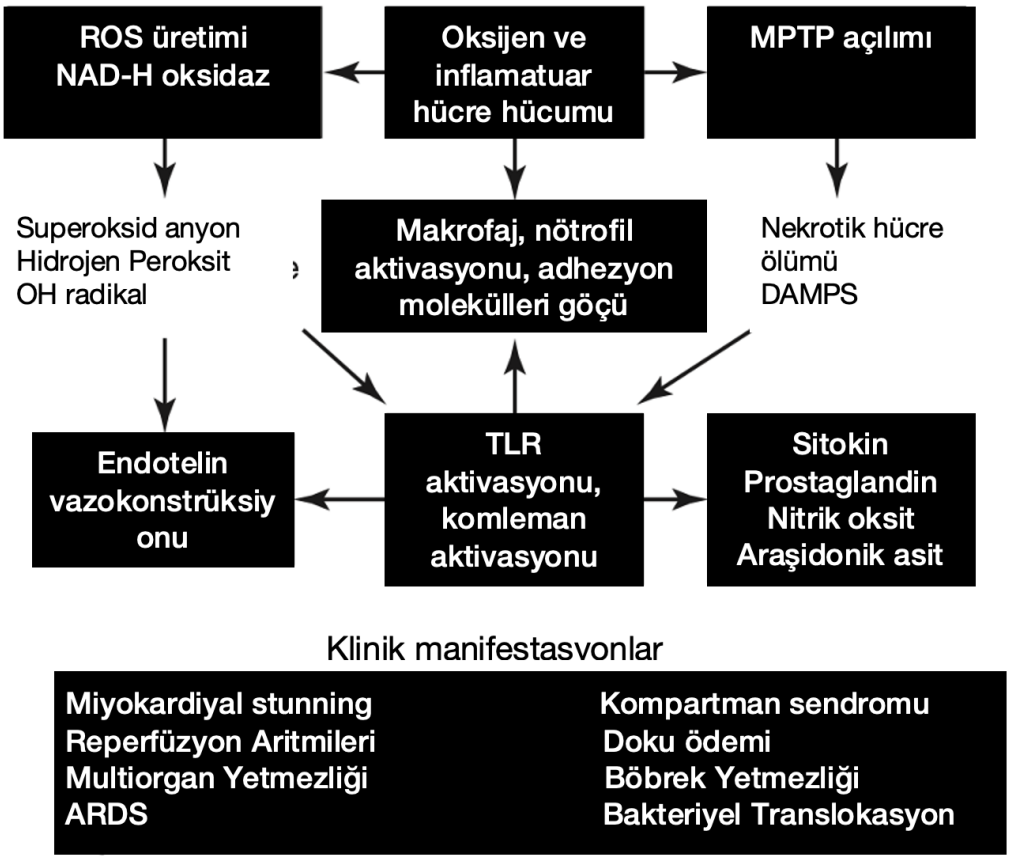
İskemik kalan doku yatağına kan akışının tekrar sağlanması ile kompleks selüler ve sistemik yanıt başlar. (Şekil 2) Bu yanıt iskemik fazdaki hasarı amplifiye edecek bir doku hasarı yaratabilir. Bu sebeple reperfüzyon hasarını önlemek veya azaltmak amacıyla birçok çalışma bu mekanizmaya odaklanmıştır.

Artmış ROS üretimi, hücre içi kalsiyum yüklenmesi ve hücre içi ph'ın normale dönmesi ile reperfüzyon hasarının hücre içi değişiklikleri başlar. Reperfüzyona bağlı doku kaybının primer belirteci mitokondrial hasardır(23). ROS üretimi sonucu mitokondriada apopitotik ve nekrotik hücre ölüm yolakları aktive olur, mitokondrial membran permeabilitesi artar ve sitokorom c gibi proapopitotik protein salınımı başlar. Mitokondrial membrandan sitokrom c nin kaybı aerobik hücre solunumunda azalmaya ve ROS düzeyinin artışına sebep olarak apopitozu arttırır.

TNF reseptör yolağı ve nüklear faktör kappa B (NF-κB) proinflamator yolak gibi hücre ölüm yolakları aktifleştiğinde bazı protein ve protein parçacıklarının hücre dışına salınımına sebep olur ve bu bir inflamatuar yanıt oluşumuna sebep olur. Programlanmış hücre ölümü ile apopitoz hızlanır.

Kompleman kaskadının aktivasyonu da I/R hasarında rol oynar. Reperfüzyon esnasında hücre yüzeyinde oluşan lipid ve proteinler oksidatif modifikasyonları antikor ilişkili kompleman aktivasyonuna sebep olur. C3b ve C5b moleküllerinin hücre yüzeyinde kolonizasyonu hücre hasarını ve nekrozunu arttırır.

I/R'nun mitokondrial komplekse verdiği hasar sonucu hücrede serbest radikallere karşı temel savunma hattı olan superoksid dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz işlevini kaybeder ve oldukça fazla serbest oksijen radikali oluşur. (O2 ve H2O2). Serbest oksijen radikalleri hücresel lipid, protein ve nükleik asit hasarı meydana getirir(23).



Şekil 2: Reperfüzyon hasarı patofizyolojisi

Kaynak: Rutherford's Vascular Surgery and Endovascular Therapy

2.1.2.I/R Klinik Bulguları

I/R'un klinik bulguları etkilenen doku yatağının çeşidine, miktarına ve reperfüze edilebilirliğine göre değişkenlik göstermektedir.

2.1.2.1.Alt ekstremite kompartman sendromu

Kompartman sendromu akut bacak iskeminde revaskülarizasyon sonrası görülen önemli bir komplikasyondur. İskemi reperfüzyon hasarına uğrayan kas dokusu şişer ve fasyal kompartmanda sıkışarak intrakompartman basıncı hasara uğramış dokunun perfüze olmasını engeller. Tedavi edilmezse ekstremite tekrar iskemik hale gelerek başarılı revaskülarizasyona rağmen kaybedilebilir. Çeşitli çalışmalarda kompartman sendromu için yüksek insidans oranları verilmiştir (%25-30)(24).

Akut kompartman sendromu arteriyel giriş akımının ya da venöz çıkış akımının etkilendiği birçok klinik durumda klinisyenlerin karşısına çıkabilir. Yakın zamanda yapılan retrospektif çalışmalarda akut bacak iskemisinin en sık arteriyel embolizm(% 39.5) ya da tromboz (%50.2) sonucu ortaya çıktığını göstermiş olup bu hasta grubunun I/R hasarının görülme riskinin olduğu hastalar olduğu tespit edilmiştir(25). Arteriyel bypass yapılan hastalarda greft trombozu sık görülen akut bacak iskemisi sebebidir. Bunun dışında vasküler travma, crush yaralanma, iliak arterlere uzanan akut disseksiyon gibi klinik durumlarda da kompartman sendromu ile karşılaşılabilir. Uzuv için iskelet kası, en düşük kritik iskemik süreye sahip olduğu için I/R hasarı açısından en yüksek risk altında olan dokudur(26). Kas, ekstremitedeki birincil doku kütlesini temsil ettiğinden, kas hasarı, ekstremite reperfüzyon sendromunun en kritik komponentidir. Dokuların iskemiye karşı toleransı kollateral akımın miktarı ile de doğrudan ilişkilidir. Genel olarak kritik iskemi süreleri iskelet kası için 4 saat, sinir için 8 saat, yağ dokusu için 13 saat, deri için 24 saat, kemik için 4 gün olarak tespit edilmiştir(26). (Tablo 1)

Tablo 1: Kritik İskemi Süreleri

Kritik Doku İskemi Süreleri	
DOKU	**SÜRE**
Kas	4 saat
Sinir	8 saat
Yağ	13 saat
Deri	24 saat
Kemik	4 gün

Kaynak: The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review Blaisdell F(2002) 620-630

Ekstremite iskemisini takip eden reperfüzyon sendromunun iki bileşeni vardır. Reperfüzyonu takip eden lokal yanıt, doku hasarını şiddetlendirme potansiyeli olan ekstremite ödemi ve çoklu organ yetmezliği ve ölümle sonuçlanan sistemik yanıttan oluşur. Çalışmalar 3 saatlik iskemi sonrası iskelet kasında geri dönüşümsüz hücre hasarının başladığı ve 6 saatlik iskemide hücre nekrozunun oluştuğunu göstermiştir.

Turnike iskemisi ya da ekstremite reimplantasyonu gibi kas dokusu hasarının uniform olduğu durumlarda inflamatuar yanıt oranı göreceli olarak daha düşüktür. Reperfüzyonun daha sıklıkla görüldüğü trombotik ve embolik durumlarda kollateral kan akışı sebebiyle iskemi ve doku hasarı değişken olacağından inflamatuar yanıt yüksek olacaktır.

Kompartman sendromunun görüldüğü vakalarda amaç mikrosirkülasyonun basınç sebebiyle oklüzyona uğramasını engellemek ya da antikoagulan tedavi ile mikrovasküler yatağın daha ileri trombozunu engellemektir.

2.1.2.2. Sistemik komplikasyonlar

İskemik hasar fazında iskelet kasındaki hücre ölümü sebebiyle miyoglobin, ürat, potasyum ve fosfatın sistemik sirkülasyona salınımı gerçekleşir(rabdomyoliz). Hücredeki anaerobik solunum periyodu ile hücre içi laktat seviyesindeki artış serumda

laktik asidemiye sebep olur. Buna ek olarak hücre dışı alandan kalsiyum, sodyum ve sıvı iskelet kas hücresine çekilir ve intravasküler volüm deplesyonu ve hücresel ödem ortaya çıkar.

Reperfüzyon fazında hasarlı hücreler aerobik solunuma geçer. Reperfüzyon hasarı fazının ayırt edici özelliği, güçlü oksitleyici ve indirgeyici ajanlar olarak hareket eden, lipid peroksidasyonu ile hücresel membran bütünlüğüne zarar veren ve mitokondriyal hasar yoluyla apopitotik ve hücresel nekroz yolaklarının başlamasıyla serbest radikallerin oluşumundaki artıştır(3). İnflamatuar sitokin üretimi ve laktat dehidrogenaz, aspartat aminotransferaz, alanin transaminaz ve kreatinin fosfokinaz, miyoglobulin(Mb) salınımı gerçekleşir ve inflamatuar süreç başlar. Rabdomyoliz sonucu miyoglobulinin myositlerden salınımı ile Mb nin distal tübüler oklüzyonu sonucu akut böbrek yetmezliği gelişir. Bunun yanı sıra taşiaritmi, miyokardiyal depresyon, hemodinamik kollaps gibi sistemik komplikasyonların sebebi sistemik dolaşıma salınan bu proinflamutar mediatörlerdir.

Akut bacak iskemisi ve komplikasyonlarıyla ilgili güncel epidemiyolojik çalışmalar bulunmamaktadır. İsveç ve Birleşik Krallık'tan elde edilen tarihsel veriler, akut bacak iskemisi ile başvuran bireylerin büyük çoğunluğunun 80 yaşın üzerinde olduğu, 100.000 kişi başına 3 ila 14'lük bir insidans belirtmektedir(27). Akut bacak iskemi tedavisinin en büyük çağdaş epidemiyolojik analizi National Hospital Discharge Survey (NHDS, ABD) kullanmıştır(25). Bu çalışmada 1988'den 1997'ye kadar akut arteriyel emboli veya alt ekstremite trombozu ile 1 092 811 hasta yatışı olmuştur; bu, 1998'den 2007'ye 670 704'e düşmüştür, bu da arteriyel embolizasyon veya tromboz insidansında 1988'den 1997'ye 100.000 kişi başına 42.4'ten 1998'den 2007'ye 100.000 kişi başına 23.3'e bir düşüş anlamına gelmiştir. Hastane içi mortalite de %8.3'ten 6.3'e düşmüştür.

1998 ve 2009 yılları arasında ABD'nin Medicare popülasyonunda akut bacak iskemisi tedavisine ilişkin başka bir epidemiyolojik çalışmada, akut bacak iskemisi ile ilgili hastaneye yatışların insidansı 100.000 kişi yılı başına 45.7'den 26,0'a düşmüştür(28). Hastane içi mortalite oranı %12'den %9'a, ampütasyon oranı %8.1'den %6.4'e düşmüştür. Bir yıllık ampütasyon oranı %14.8 den %11'e düşmüştür.

Swedvasc kayıtlarında, nativ arter akut bacak iskemisi için revaskülarizasyon uygulanan 16 229 hastadan oluşan bir çalışmada, ekstremite iskemisinin nedeni %44 embolik, %53 trombotik ve %3 popliteal arter anevrizmasına sekonder olarak saptanmıştır(29). Çoğu embolik olay kardiyak disritmiye (%80 atriyal fibrilasyon, %20 ventriküler trombüs) bağlanmıştır. Trombotik hadiselerin çoğunluğunda altta yatan bir periferik arter hastalığı mevcuttur. Bu bulgular ışığında AF durumunda kullanılan rivaroksaban ve periferik arter hastalığı palyasyonunda kullanılan silostazol moleküllerini bu çalışma için seçtik.

3.BİYOKİMYASAL BELİRTEÇLER

3.1. 8-hidroksi-2 deoksiguanozin (8-OHdg)

Oksidatif stres ile serbest oksijen radikalleri ve antioksidan savunma hattı araasında bir dengesizlik oluşur ve lipid protein ve DNA hasarı başlar. Guanozin Dna nukleobazları arasında en fazla oksidize olan moleküldür(16). Bu sebeple oksidatif stres sonucu DNA baz hasarı tespitinde 8-OHdg markerının kullanımı üzerinde literatürde birçok çalışma mevcuttur(16). 8-OHdg, oksidatif DNA baz hasarının bir ürünüdür ve total sistemik oksidatif stresin bir belirteci olarak geniş çapta tanınmaktadır. DNA'nın oksidatif hasarı sırasında baz ve şeker modifikasyon ürünleri, kovalent çapraz bağlar, tek ve çift sarmallı kopmalar gibi çok çeşitli DNA ürünleri üretilir. Ancak bu ürünler arasında en çok ilgi nükleobaz modifikasyonlarına ve özellikle 8-OHdg'ye odaklanmıştır. Temel biyomoleküllere (proteinler, zar lipidleri ve DNA) zarar veren en önemli serbest oksijen radikali, hidroksil radikalidir (OH^-). Hidroksil radikali, özellikle hidrojen peroksitin ve metallerin ve diğer endojen ve ekzojen serbest oksijen radikallerinin Fenton reaksiyonu gibi çeşitli mekanizmalarla üretilebilir. Hidroksil, hücresel ve mitokondriyal DNA'ya bitişik üretildiğinde DNA zincirlerine saldırır ve bu da çeşitli oksidasyon ürünlerinin oluşumuna yol açan DNA bazlarına yeni radikallerin eklenmesine neden olur(30). Guanin bazı en düşük iyonlaşma potansiyeline sahip olduğundan, bu nükleobaz en kolay oksitlenendir(31). Hidroksilin DNA sarmalının nükleobazları, örneğin guanin ile etkileşimi, C8-

hidroksiguanin (8-OHGua) veya bunun nükleosit formu olan deoksiguanozin (8-hidroksi-2'-deoksiguanozin) oluşumuna yol açar. Başlangıçta hidroksil ilavesinin reaksiyonu, radikal eklentilerin oluşumuna yol açar, ardından bir elektron eksilmesi ile 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdg) oluşur(32). Oksidatif olarak üretilen DNA ürünleri, oksidatif stresin yokluğunda düşük seviyelerde bulunabilirken, artan konsantrasyonlar patolojik bir durumu gösterebilir veya tahmin edebilir. 8-OHdg, insanlarda bulunan en bol oksidatif DNA onarım ürünüdür. Artan 8-OHdg seviyeleri karsinogenez ile ilişkilendirilmiştir, ancak kardiyovasküler hastalık gibi diğer patolojik durumlarla da ilişkilendirilebilir(32)(33).

8-OHdg konsantrasyonu, kan, idrar, beyin omurilik sıvısı, tükürük, lökositler ve dokular dahil olmak üzere farklı örneklerde belirlenebilir. 8-OHdg konsantrasyonlarını ölçmek için enzim bağlantılı immünosorbent tahlili (ELISA), gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS), elektrokimyasal algılamalı yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC-ECD) ve tandem kütle spektrometrisi (LC-MS/MS) ile sıvı kromatografisi gibi yöntemler kullanılabilir. Çalışmamızda 8-OHdg plazma ve doku konsantrasyonlarını ölçmek için ELISA metodunu tercih ettik.

3.2. Malondialdehit (MDA)

İskemi reperfüzyon hasarı sonrasında oksidatif stres sonucu lipid peroksidasyonu gelişir. Lipid oksidasyonu bir dizi ikincil ürüne yol açar. Bu ürünler esas olarak oksidatif hasarı şiddetlendirme yeteneğine sahip aldehitlerdir(34). Uzun ömür ve yüksek reaktivite, bu moleküllerin hücrelerin içinde ve dışında hareket etmesine, nükleik asitler ve proteinler gibi biyomoleküllerle etkileşime girmesine ve genellikle hücre işlevselliğinde yer alan hassas mekanizmalara geri dönüşümsüz şekilde zarar vermesine sebep olur. Lipid peroksidayonunun en iyi araştırılmış molekülü malondialdehittir. MDA, poliansatüre yağ asitlerinin iki veya daha fazla metilen kesintili çift bağ ile peroksidasyonu sonucu oluşur(14).

MDA lipid peroksidasyonu ile oluşmasının yanı sıra fizyolojik metabolizmalar tarafından da üretilebilir, DNA-protein crosslink aktivitesi nedeniyle oldukça mutajenik bir üründür. Bu nedenle MDA, basit bir belirteçten ziyade yüksek mutasyon

riskinin açık bir alarmıdır(35). Lipoproteinler üzerindeki MDA etkisi aterogenez ile ilişkilendirilmiştir ve aynı zamanda kollajene karşı reaktivitesi kardiyovasküler dokunun sertleşmesinden de sorumludur(36)(37). MDA'yı belirlemeye yönelik çoğu tahlil, tiyobarbitürik asit (TBA) ile türevlendirilmesi temelinde geliştirilmiştir. Bu iki molekülün etkileşimi, bir spektrofotometre ile kolayca değerlendirilebilen bir additif bileşen oluşturur.

Çeşitli hastalıklardan etkilenen deneklerden alınan biyolojik numunelerdeki MDA seviyelerinin ölçümü yaygın olarak kullanılmaktadır. Lipid peroksidasyonu ve kanser etyolojisi arasındaki bağlantı birçok çalışmada vurgulanmıştır(38)(39). Diabetes Mellitus tanılı hastalarda da nefropati, nöropati ve retinopati gelişimi ile MDA düzeyleri arasındaki korelasyon dikkati çekmiştir(40). Kalp yetmezliği, ateroskleroz gibi kardiyovasküler hastalıklar ayrıca serbest radikal aracılı mekanizmalar ve lipid peroksidasyonu ile de ilişkilendirilmiştir(34).

3.3. Okside ve redükte glutatyon

Glutatyon (GSH) tüm hücrelerde bulunan oksidatif hasara karşı önemli bir rol taşıyan bir moleküldür(15). Hücrede temel olarak redükte halde bulunur, oksidatif koşullarda 2 GSH molekülü okside olarak glutatyon disülfidi (GSSG) oluşturur(15). Redükte glutatyon (GSH), ana hücre içi protein olmayan tiyol bileşiğidir ve hücrelerin ve doku yapılarının oksidatif hasardan korunmasında önemli bir rol oynar. Sistein, glutamik asit ve glisinden oluşan bir tripeptittir. GSH başta karaciğer olmak üzere tüm organlarda bulunur. GSH, hidrojen peroksit, diğer peroksitler, serbest radikaller ve çeşitli elektrofillere karşı detoksifikasyon yeteneğine sahiptir(41). GSH'ın antioksidan işlevi, öncelikle hücrelerin serbest oksiken radikallerine karşı geliştirdiği enzimatik yolaklardaki rolünden kaynaklanmaktadır. En önemli yol, glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktazı içerir. GPx, süperoksit anyonunun veya organik hidroperoksitlerin dismutasyonu yoluyla süperoksit dismutaz (SOD) tarafından üretilen hidrojen peroksitin indirgenmesini katalize eder(42). GSH ve GSH'a bağımlı enzimler, ROS'u temizlemek ve/veya toksik oksitleyici etkilerini nötralize etmek için iş birliği içinde hareket eder. Düşük GSH, yüksek GSSG düzeyleri veya düşük GSH/GSSG oranı artmış oksidatif stres lehine yorumlanır ve birçok çalışmada çeşitli

hastalıkların ve toksisite durumunun patofizyolojisi ile ilişkilendirilmiştir(43). GSH/GSSG oranı ölçümü için birçok method vardır ancak High-performance liquid chromatography (HPLC) metodu glutatyon ölçümü için en sensitif ve selektif method olarak literatüre geçmiştir(44). Biz de çalışmamızda bu ölçüm için HPLC methodunu tercih ettik.

4.GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza Dokuz Eylül Üniversitesi Multidisiplin Laboratuvarı Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 12/2021 protokol numarası ile izin alınmıştır. Deneyde Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Multidisiplin Deney Hayvanları Laboratuvarında üretilen 28 adet ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen albino dişi ratlar kullanılmıştır. Deneyin örneklem sayısı G*Power uygulaması kullanılarak belirlenmiştir. Rat modeli kullanılmasının amacı Dokuz Eylül Üniversitesi Multidisiplin Deney Hayvanları laboratuvarından temin edilebilme, güvenilirlik ve deneyin tekrar edilebilme oranının yüksek olmasıdır.12 saatlik aydınlık-karanlık siklusu gözetilerek biyolojik ritm korunan ratlarda, standart iklimlendirme sağlanmış, standart doğal yemleme (pelet yem)-`Ad Libitum yapılmış ve standart rat kafeslerinde barındırılmıştır. Çalışma aynı laboratuvar şartlarında yapılmıştır**.** Ratlar dört gruba ayrılmıştır.

Deney grubu 1 (sham grubu): Herhangi bir tedavi verilmeyen ve işlem yapılmayan grup.
Deney grubu 2(kontrol grubu): Herhangi bir tedavi verilmeyen ve iskemi reperfüzyon hasarı yaratılan grup
Deney grubu 3: 10 gün süre oral gavaj yöntemi ile 3mg/kg/gün rivaroksaban tedavisi aldıktan sonra arka bacak iskemi reperfüzyon hasarı yaratılan grup.
Deney grubu 4: 10 gün süre oral gavaj yöntemi ile 10mg/kg/gün silostazol tedavisi aldıktan sonra arka bacak iskemi reperfüzyon hasarı yaratılan grup.

Rivaroksaban ve silostazol tedavisinin uygulama dozlarına, daha önce benzer hayvan kullanılan proje literatürleri incelenerek karar verilmiştir. İlaçlar 1mg/ml

olacak şekilde distile su içinde dilüe edilmiştir. Ratlara her gün aynı saatte oral gavaj yöntemi ile ilaçlar verilmiştir.

4.1.Deney Prosedürü

10 gün ilaç tedavisiyle izlenen ratlara 50 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin dozundan uygulanarak anestezi ve analjezi sağlandıktan sonra sol arka bacak traş ve dezenfeksiyonu yapılmıştır. Sol bacak kalça eklemi hizasında lastik bant ile turnike uygulanmıştır. 1 saatlik iskemi sağlanmıştır. İskemi metodu vasküler el doppler ultrasonu (maquet) kullanılarak doğrulanmıştır. Turnike yöntemi, rat arka bacak kollateral dolaşımının güçlü olmasından dolayı sadece femoral arter ligasyonunun alt ekstremite iskemisi yaratma konusunda yetersiz kaldığına dair yayınlar olmasından dolayı seçilmiştir(45). 1 saatin sonunda turnike açılmış, hayvanların anesteziden çıkması sağlanmış ve 2 saatlik reperfüzyon süresi verilmiştir. 2 saatin sonunda örnek almak amacı ile hayvanlar sakrifiye edilmiştir.

Kan örnekleri intrakardiyak alınmıştır. Doku örnekleri alınıp 100 ml %0,9 NaCl ile yıkanmıştır. Doku ve kan örnekleri soğuk uygulamaya alınıp biyokimya laboratuvarına götürülmüştür. Dokular ependorf tüplerinde daha sonra fikse edilmek üzere -80 derecede korumaya alınmıştır. Kan örnekleri 2000rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serum ve plazma elde edilmiş ependorf tüplerinde -80derecede saklanmak üzere korumaya alınmıştır.



Şekil 3 : Turnike Sonrası Rat Ekstremitesi

4.2.Doku Homojenizasyonu, ELİSA ve HPLC prosedürü

Alınan iskelet kası doku örnekleri ependorf tüplerde homojenizasyon işlemi yapılana kadar -80°C'de saklanmıştır. Homojenizasyon işlemi öncesi buz üzerine

alınan ependorf tüplerine 1.5 mL soğutulmuş yaygın olarak kullanılan bir tampon solüsyonu olan fosfat tamponlu salin, Phosphate Buffered Saline, (PBS) tamponu eklenmiştir ve metal boncuk (bead) konularak TissueLyser II QIAGEN ® cihazında homojenize edilmiştir. Bundan sonra 10000 g'de 15 dk 4°C' de santrifüj edilmiştir. Santrifüjden çıkan numunelerin süpernatant kısmı ependorf tüplere alınmıştır. Dipte kalan kısım boncuklar uzaklaştırıldıktan sonra atılmıştır. Ependorf tüpteki süpernatanlar -80°C'de MDA, Okside/Redükte Glutatyon ve 8OHdG ölçümleri için saklanmıştır. Süpernatantın bir kısmından aynı gün Pierce BCA Protein ölçüm kiti (Thermo Scientific, USA) kullanılarak fotometrik metod ile protein düzeyleri ölçülmüştür. Bu şekilde daha sonra elde edilen doku MDA, Okside/Redükte Glutatyon ve 8OHdG sonuçları protein miktarına oranlanarak ifade edilmiştir.

Doku, serum / plazma örneklerinin MDA düzeyi, Okside/Redükte Glutatyon düzeyleri (ImmuChrom HPLC kit, Germany) yüksek performanslı sıvı kromatografisi HPLC yöntemi ile belirlenmiştir.

Doku ve plazmada 8OHdG düzeylerinin kantitatif ölçümünde BT Lab Rat 8-Hydroxy-desoxyguanosine ELISA ® kiti kullanılmıştır. Bu, iki basamaklı yarışmalı ELISA (Enzyme- Linked ImmunoSorbent Assay) yöntemi olup, mikroplak kuyularında en son oluşan renk şiddetinin 450 nm'de absorbansların plak okuyucu ile okutulması prensibine dayanmaktadır. Bilinen konsantrasyonlara karşı ölçülmüş absorbanslar ile oluşturulmuş standart eğri ile örnekteki 8OHdG miktarı belirlenmiştir. 8OHdG konsantrasyonu ng/mL olarak ifade edilmiştir. (Kitin belirlemiş olduğu ölçüm aralığı: 0.05 ng/mL – 20 ng/mL, alt saptama sınırı 0.027 ng/mL'dir.)

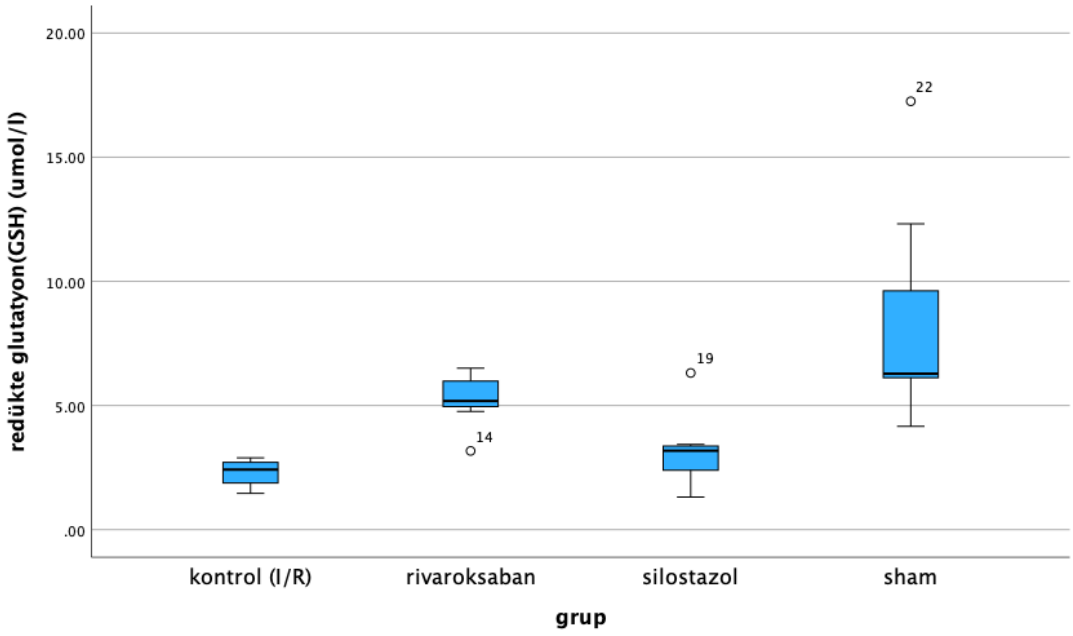
4.3.İstatistiksel Yöntem

İstatistiksel analiz için IBM SPSS versiyon 29 programı kullanılmıştır. Veriler ortalama(mean) ± standart sapma olarak ifade edilmiştir. Grupların normalitesi Shapiro- Wilk testi ile kontrol belirlenmiştir. Normal dağılıma uygun olmayan bir grup için log10 transformasyon yöntemi ile normalite sağlanmıştır. Normal dağılıma sahip gruplar arasındaki farklar tek yönlü ANOVA testi ile değerlendirilmiştir. Varyansların

homojenitesi Levene's homojenite testi ile değerlendirilmiş, varyansları homojen olan gruplar için Bonferroni, varyansları heterojen olan gruplar için Games-Howell post-hoc testleri kullanılmıştır. P<0.05 anlamlılık düzeyi esas alınmıştır.

5.BULGULAR

5.1.Redükte Glutatyon



Grafik 1 : Kan redükte glutatyon (GSH) düzeyleri

Tablo 2: Kan Redükte Glutatyon (GSH) Tanımlayıcı Değerler

Tanımlayıcı Veriler

Redükte glutatyon(GSH) (umol/l)

	N	Ortalama	Std. Sapma	Std. Hata	Ortalama için %95 Güven Aralığı Alt Sınır	Ortalama için %95 Güven Aralığı Üst Sınır	Minimum	Maximum
kontrol	7	2.2771	. 56870	.21495	1.7512	2.8031	1.46	2.89
rivaroksaban	7	5.2471	1.12439	.42498	4.2073	6.2870	3.17	6.50
silostazol	7	3.1886	1.59654	.60344	1.7120	4.6651	1.31	6.31
sham	7	8.4529	4.63210	1.75077	4.1689	12.7368	4.16	17.25
Total	28	4.7914	3.39438	.64148	3.4752	6.1076	1.31	17.25

Tablo 3 : Kan Redükte Glutatyon (GSH) İstatistik

Çoklu Karşılaştırmalar

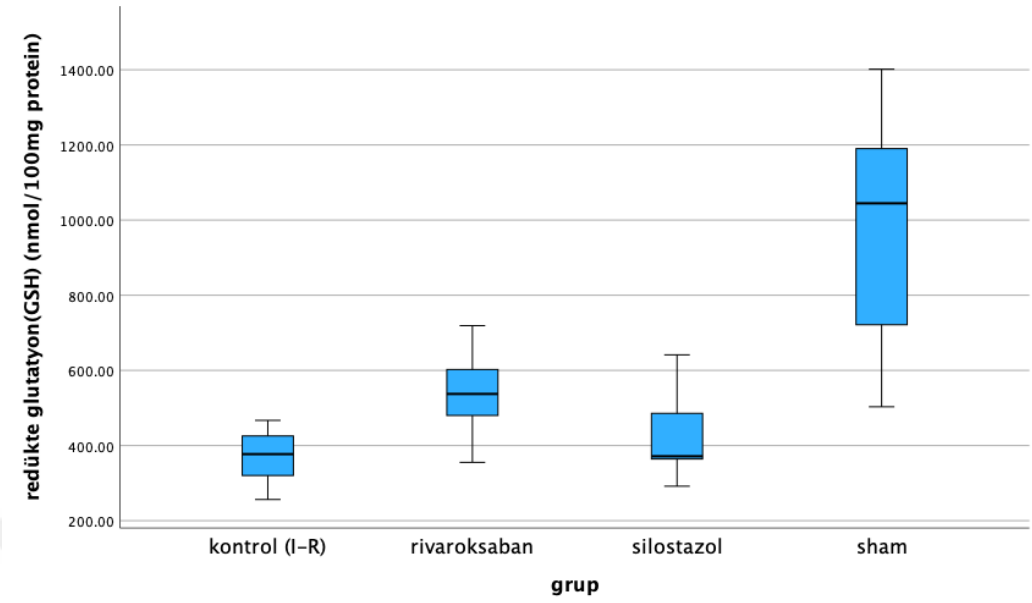
Bağımlı Değişken: Redükte glutatyon(GSH) (umol/l)

Bonferroni

(I) grup	(J) grup	Ortalama Fark (I-J)	Std. Hata	Sig.	95% Güven Aralığı Alt Sınır	95% Güven Aralığı Üst Sınır
kontrol	rivaroksaban	-.36561*	.09134	.003	-.6282	-.1030
	silostazol	-.11356	.09134	1.000	-.3762	.1490
	sham	-.53538*	.09134	<.001	-.7980	-.2728
rivaroksaban	kontrol	.36561*	.09134	.003	.1030	.6282
	silostazol	.25205	.09134	0.065	-.0105	.5146
	sham	-.16977	.09134	.452	-.4324	.0928
silostazol	kontrol	.11356	.09134	1.000	-.1490	.3762
	rivaroksaban	-.25205	.09134	.065	-.5146	.0105
	sham	-.42182*	.09134	<.001	-.6844	-.1592
sham	kontrol	.53538*	.09134	<.001	.2728	.7980
	rivaroksaban	.16977	.09134	.452	-.0928	.4324
	silostazol	.42182*	.09134	<.001	.1592	.6844

*. Ortalama fark 0.05 düzeyinde anlamlıdır.

Kan redükte glutatyon düzeyleri ortanca değerler ve standart sapmalar tablo 2' de verilmiştir. Gruplar arasındaki farklar tablo 3 ve Grafik 1 de gösterilmiştir. Çoklu karşılaştırmada kan redükte glutatyon düzeyinin tüm gruplarda kontrol (I/R) grubuna göre önemli derecede yüksek olduğu görülmüştür. Kontrol grubunun rivaroksaban grubu ($p<0.003$) ve sham grubu ($p<0.001$) ile arasındaki farkı istatistiksel olarak anlamlıdır. Kontrol grubu ile silostazol grubu arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. ($p<1$) Rivaroksaban ve silostazol tedavi grupları arasında anlamlı fark yoktur.



Grafik 2 : Doku Redükte Glutatyon

Tablo 4: Doku Redükte Glutatyon Tanımlayıcı Değerler

Tanımlayıcı Veriler

redükte glutatyon (GSH) (nmol/100mg protein)

	N	Ortalama	Std. Sapma	Std. Hata	Ortalama için %95 Güven Aralığı		Minimum	Maximum
					Alt Sınır	Üst Sınır		
kontrol	7	370.2467	79.50040	30.04833	296.7211	443.7723	256.22	467.08
rivaroksaban	7	539.4731	117.42546	44.38265	430.8726	648.0735	355.33	719.04
silostazol	7	429.1260	117.86687	44.54949	320.1173	538.1346	291.57	641.51
sham	7	967.5869	338.62417	127.98791	654.4117	1280.7620	503.21	1401.65
Total	28	576.6081	299.50972	56.60202	460.4704	692.7459	256.22	1401.65

Tablo 5: Doku Redükte Glutatyon İstatistik

Çoklu Karşılaştırmalar

Bağımlı Değişken: redükte glutatyon (GSH) (nmol/100mg protein)

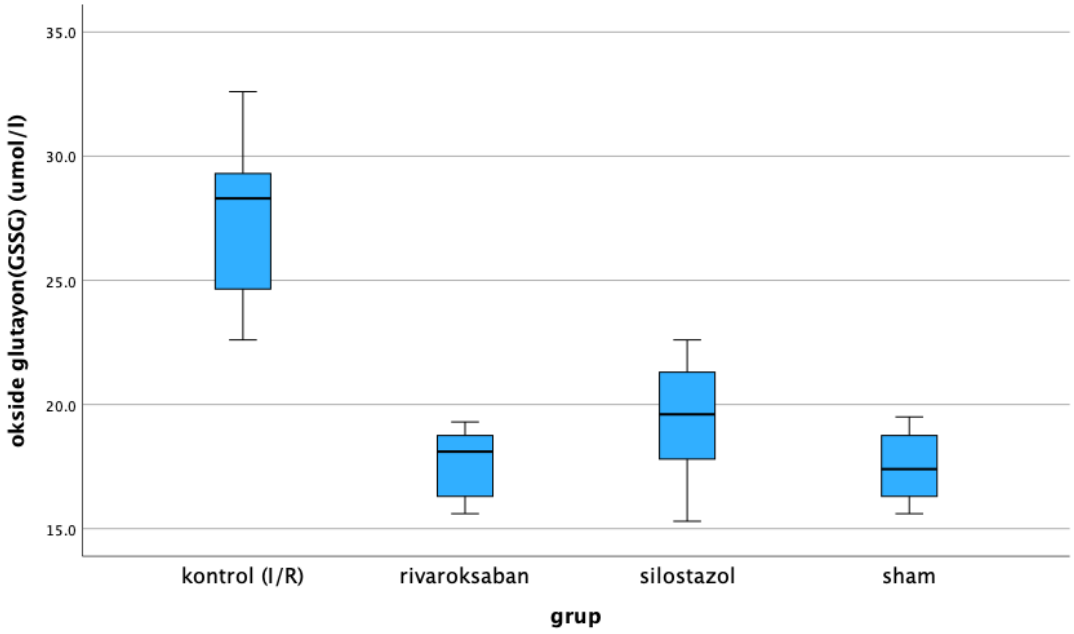
Games-Howell

(I) grup	(J) grup	Ortalama Fark (I-J)	Std. Hata	Sig.	95% Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
kontrol	rivaroksaban	-169.22642*	53.59778	.041	-331.6748	-6.7780
	silostazol	-58.87930	53.73601	.700	-221.8057	104.0471
	sham	-597.34021*	131.46789	.012	-1038.5063	-156.1741
rivaroksaban	kontrol	169.22642*	53.59778	.041	6.7780	331.6748
	silostazol	110.34712	62.88463	.340	-76.3515	297.0458
	sham	-428.11379	135.46485	.057	-869.7929	13.5653
silostazol	kontrol	58.87930	53.73601	.700	-104.0471	221.8057
	rivaroksaban	-110.34712	62.88463	.340	-297.0458	76.3515
	sham	-538.46091*	135.51960	.020	-980.1639	-96.7579
sham	kontrol	597.34021*	131.46789	.012	156.1741	1038.5063
	rivaroksaban	428.11379	135.46485	.057	-13.5653	869.7929
	silostazol	538.46091*	135.51960	.020	96.7579	980.1639

*. Ortalama fark 0.05 düzeyinde anlamlıdır.

Doku redükte glutatyon düzeyleri ortanca değerler ve standart sapmalar Tablo 4'te verilmiştir. Gruplar arasındaki farklar Tablo 5 ve Grafik 2'de gösterilmiştir. Çoklu karşılaştırmada doku redükte glutatyon düzeyinin tüm gruplarda kontrol (I/R) grubuna göre önemli derecede yüksek olduğu görülmüştür. Kontrol grubunun rivaroksaban grubu ($p<0.41$) ve sham grubu ($p<0.012$) ile arasındaki farkı istatistiksel olarak anlamlıdır. Kontrol grubu ile silostazol grubu arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. ($p<0.700$) Rivaroksaban ve silostazol tedavi grupları arasında anlamlı farkı yoktur.

5.2.Okside Glutatyon



Grafik 3 : Kan Okside Glutatyon

Tablo 6: Kan Okside Glutatyon Tanımlayıcı Değerler

Tanımlayıcı Veriler

Okside glutatyon(GSSG) (umol/l)

	N	Ortalama	Std. Sapma	Std. Hata	Ortalama için %95 Güven Aralığı		Minimum	Maximum
					Alt Sınır	Üst Sınır		
kontrol	7	27.343	3.5547	1.3436	24.055	30.630	22.6	32.6
rivaroksaban	7	17.586	1.5148	.5726	16.185	18.987	15.6	19.3
silostazol	7	19.386	2.7058	1.0227	16.883	21.888	15.3	22.6
sham	7	17.514	1.5399	.5820	16.090	18.938	15.6	19.5
Total	28	20.457	4.7376	.8953	18.620	22.294	15.3	32.6

Tablo 7:Kan Okside Glutatyon İstatistik

Çoklu Karşılaştırmalar

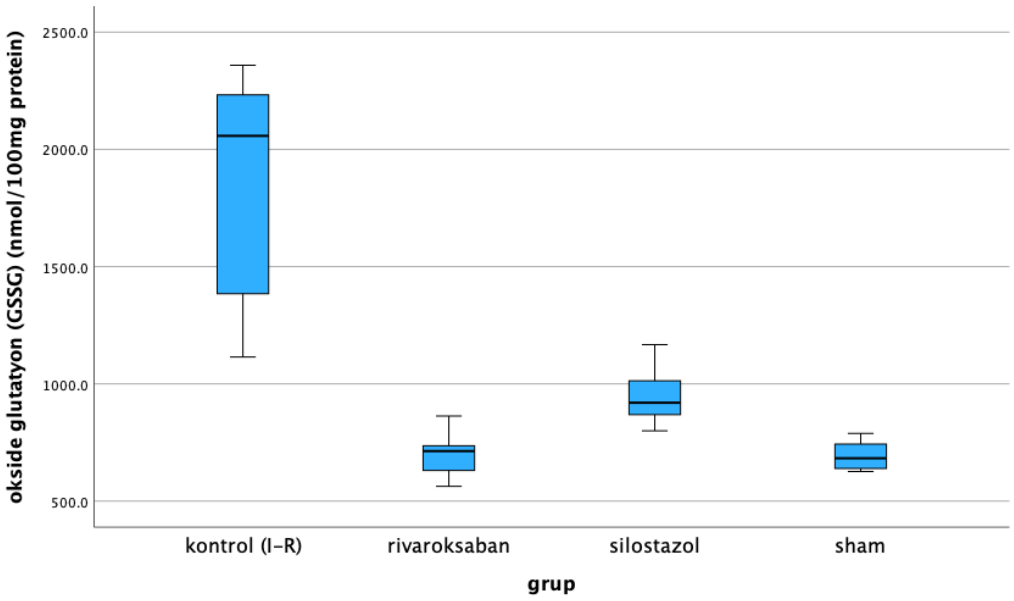
Bağımlı Değişken: Okside glutatyon(GSSG) (umol/l)

Bonferroni

(I) grup	(J) grup	Ortalama Fark (I-J)	Std. Hata	Sig.	95% Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
kontrol	rivaroksaban	9.7571*	1.3262	<.001	5.944	13.570
	silostazol	7.9571*	1.3262	<.001	4.144	11.770
	sham	9.8286*	1.3262	<.001	6.016	13.642
rivaroksaban	kontrol	-9.7571*	1.3262	<.001	-13.570	-5.944
	silostazol	-1.8000	1.3262	1.000	-5.613	2.013
	sham	.0714	1.3262	1.000	-3.742	3.884
silostazol	kontrol	-7.9571*	1.3262	<.001	-11.770	-4.144
	rivaroksaban	1.8000	1.3262	1.000	-2.013	5.613
	sham	1.8714	1.3262	1.000	-1.942	5.684
sham	kontrol	-9.8286*	1.3262	<.001	-13.642	-6.016
	rivaroksaban	-.0714	1.3262	1.000	-3.884	3.742
	silostazol	-1.8714	1.3262	1.000	-5.684	1.942

*. Ortalama fark 0.05 düzeyinde anlamlıdır.

Kan okside glutatyon düzeyleri ortanca değerler ve standart sapmalar Tablo 6'da verilmiştir. Gruplar arasındaki farklar Tablo 7 ve Grafik 3'te gösterilmiştir. Çoklu karşılaştırmada kan okside glutatyon düzeyinin tüm gruplarda kontrol (I/R) grubuna göre önemli derecede düşük olduğu görülmüştür. Kontrol grubunun rivaroksaban grubu ($p<0.001$), sham grubu ($p<0.001$), silostazol grubu ($p<0.001$) ile arasındaki farkı istatistiksel olarak anlamlıdır. Rivaroksaban ve silostazol tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur.



Grafik 4 : Doku Okside Glutatyon

Tablo 8:Doku Okside Glutatyon Tanımlayıcı Değerler

Tanımlayıcı Veriler

Okside glutatyon (GSSG) (nmol/100mg protein)

	N	Ortalama	Std. Sapma	Std. Hata	Ortalama için %95 Güven Aralığı		Minimum	Maximum
					Alt Sınır	Üst Sınır		
kontrol (I-R)	7	1823.555	518.5502	195.9936	1343.976	2303.134	1114.3	2358.9
rivaroksaban	7	695.949	98.9007	37.3810	604.481	787.417	562.7	862.5
silostazol	7	949.819	127.2255	48.0867	832.155	1067.483	799.7	1167.2
sham	7	694.508	67.1327	25.3738	632.421	756.596	625.7	788.6
Total	28	1040.958	537.9993	101.6723	832.343	1249.572	562.7	2358.9

Tablo 9:Doku Okside Glutatyon İstatistik

Çoklu Karşılaştırmalar

Bağımlı Değişken: Okside glutatyon (GSSG) (nmol/100mg protein)

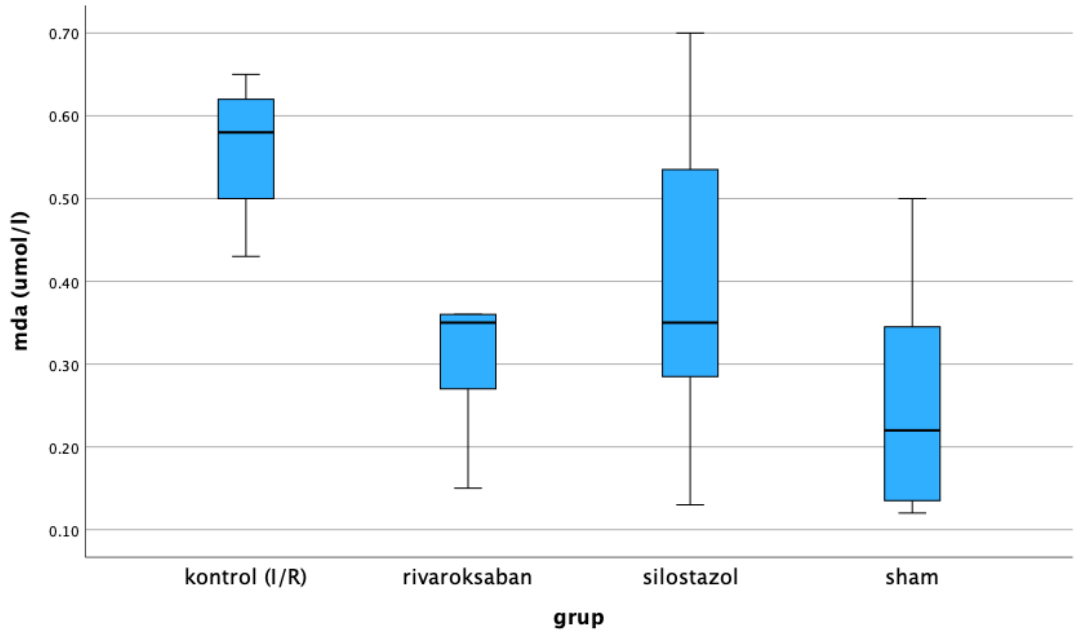
Games-Howell

		Ortalama Fark			95% Güven Aralığı	
(I) grup	(J) grup	(I-J)	Std. Hata	Sig.	Alt Sınır	Üst Sınır
kontrol (I-R)	rivaroksaban	1127.6056*	199.5265	.004	451.468	1803.743
	silostazol	873.7359*	201.8064	.015	198.243	1549.228
	sham	1129.0462*	197.6292	.005	451.869	1806.224
rivaroksaban	kontrol (I-R)	-1127.6056*	199.5265	.004	-1803.743	-451.468
	silostazol	-253.8697*	60.9071	.007	-436.348	-71.391
	sham	1.4406	45.1793	1.000	-135.458	138.339
silostazol	kontrol (I-R)	-873.7359*	201.8064	.015	-1549.228	-198.243
	rivaroksaban	253.8697*	60.9071	.007	71.391	436.348
	sham	255.3103*	54.3706	.005	85.957	424.664
sham	kontrol (I-R)	-1129.0462*	197.6292	.005	-1806.224	-451.869
	rivaroksaban	-1.4406	45.1793	1.000	-138.339	135.458
	silostazol	-255.3103*	54.3706	.005	-424.664	-85.957

*. Ortalama fark 0.05 düzeyinde anlamlıdır.

Doku okside glutatyon düzeyleri ortanca değerler ve standart sapmalar Tablo 8'de verilmiştir. Gruplar arasındaki farklar Tablo 9 ve Grafik 4'te gösterilmiştir. Çoklu karşılaştırmada doku okside glutatyon düzeyinin tüm gruplarda kontrol (I/R) grubuna göre önemli derecede düşük olduğu görülmüştür. Kontrol grubunun rivaroksaban grubu ($p<0.004$), sham grubu ($p<0.005$), silostazol grubu ($p<0.015$) ile arasındaki farkı istatistiksel olarak anlamlıdır. Rivaroksaban ve silostazol tedavi grupları arasında anlamlı fark saptanmış olup rivaroksaban grubundaki okside glutatyon düzeyi daha düşüktür. ($p<0.07$)

5.3.Malondialdehit



Grafik 5 :Kan Malondialdehit Düzeyler

Tablo 10: Kan Malondialdehit Tanımlayıcı Değerler

Tanımlayıcı Veriler

mda (umol/l)

	N	Ortalama	Std. Sapma	Std. Hata	Ortalama için %95 Güven Aralığı		Minimum	Maximum
					Alt Sınır	Üst Sınır		
kontrol	7	.5571	.08139	.03076	.4819	.6324	.43	.65
rivaroksaban	7	.2886	.09494	.03589	.2008	.3764	.15	.38
silostazol	7	.4029	.20846	.07879	.2101	.5957	.13	.70
sham	7	.2714	.14519	.05488	.1371	.4057	.12	.50
Total	28	.3800	.17695	.03344	.3114	.4486	.12	.70

Tablo 11:Kan Malondialdehit İstatistik

Çoklu Karşılaştırmalar

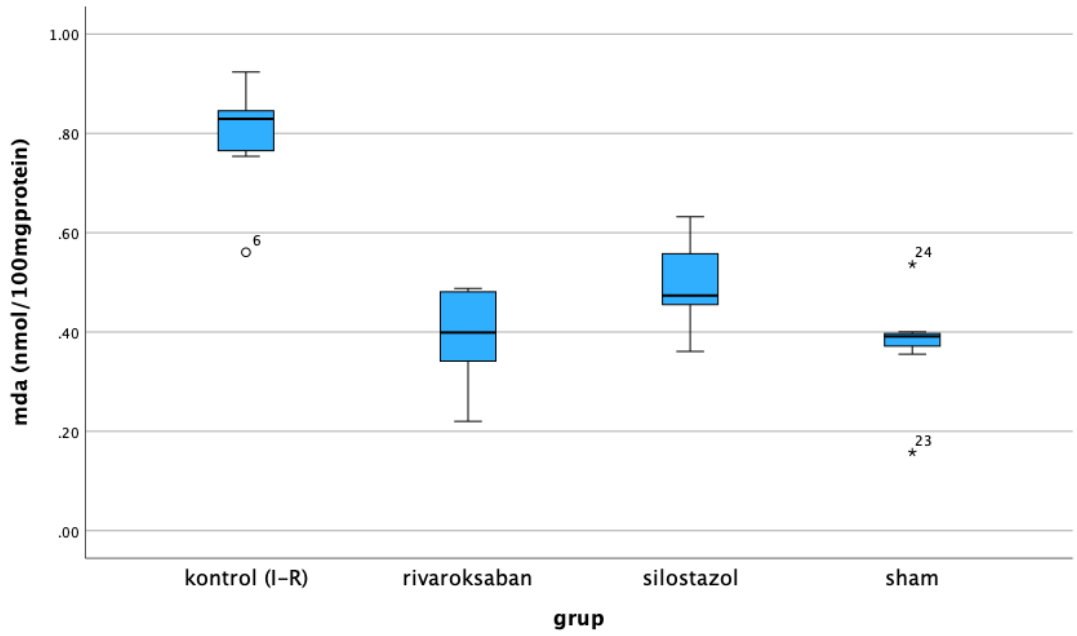
Bağımlı Değişken: mda (umol/l)

Bonferroni

(I) grup	(J) grup	Ortalama Fark (I-J)	Std. Hata	Sig.	95% Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
kontrol	rivaroksaban	.26857*	.07568	.010	.0510	.4861
	silostazol	.15429	.07568	.316	-.0633	.3719
	sham	.28571*	.07568	.006	.0681	.5033
rivaroksaban	kontrol	-.26857*	.07568	.010	-.4861	-.0510
	silostazol	-.11429	.07568	.864	-.3319	.1033
	sham	.01714	.07568	1.000	-.2004	.2347
silostazol	kontrol	-.15429	.07568	.316	-.3719	.0633
	rivaroksaban	.11429	.07568	.864	-.1033	.3319
	sham	.13143	.07568	.572	-.0861	.3490
sham	kontrol	-.28571*	.07568	.006	-.5033	-.0681
	rivaroksaban	-.01714	. .07568	1.000	-.2347	.2004
	silostazol	-.13143	.07568	.572	-.3490	.0861

*. Ortalama fark 0.05 düzeyinde anlamlıdır.

Kan malondialdehit düzeyleri ortanca değerler ve standart sapmalar Tablo 10'da verilmiştir. Gruplar arasındaki farklar Tablo 11 ve Grafik 5'te gösterilmiştir. Çoklu karşılaştırmada kan MDA düzeyinin tüm gruplarda kontrol (I/R) grubuna göre önemli derecede düşük olduğu görülmüştür. Kontrol grubunun rivaroksaban grubu ($p<0.01$) ve sham grubu ($p<0.006$) ile arasındaki farkı istatistiksel olarak anlamlıdır. Kontrol grubu ile silostazol grubu arasında anlamlı fark saptanmamıştır. ($p<0.316$) Rivaroksaban ve silostazol tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur.



Grafik 6 :Doku Malondialdehit Düzeyleri

Tablo 12:Doku Malondialdehit Tanımlayıcı Değerler

Tanımlayıcı Veriler

mda (nmol/100mg protein)

	N	Ortalama	Std. Sapma	Std. Hata	Ortalama için %95 Güven Aralığı		Minimum	Maximum
					Alt Sınır	Üst Sınır		
kontrol (I-R)	7	.7906	.11528	.04357	.6840	.8973	.56	.92
rivaroksaban	7	.3931	.10203	.03856	.2987	.4874	.22	.49
silostazol	7	.4989	.09225	.03487	.4136	.5842	.36	.63
sham	7	.3746	.11182	.04226	.2712	.4780	.16	.54
Total	28	.5143	.19663	.03716	.4381	.5906	.16	.92

Tablo 13:Doku Malondialdehit İstatistik

Çoklu Karşılaştırmalar

Bağımlı Değişken: mda (nmol/100mg protein)

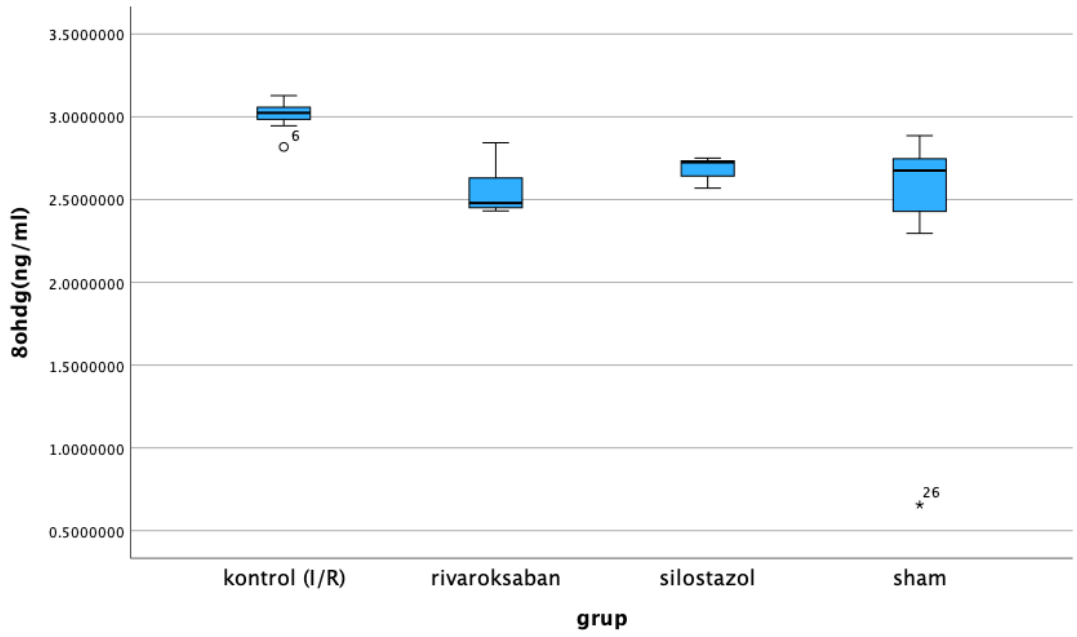
Bonferroni

(I) grup	(J) grup	Ortalama Fark (I-J)	Std. Hata	Sig.	95% Güven Aralığı Alt Sınır	95% Güven Aralığı Üst Sınır
kontrol (I-R)	rivaroksaban	.39756*	.05651	<.001	.2351	.5600
	silostazol	.29173*	.05651	<.001	.1292	.4542
	sham	.41602*	.05651	<.001	.2535	.5785
rivaroksaban	kontrol (I-R)	-.39756*	.05651	<.001	-.5600	-.2351
	silostazol	-.10584	.05651	.440	-.2683	.0566
	sham	.01846	.05651	1.000	-.1440	.1809
silostazol	kontrol (I-R)	-.29173*	.05651	<.001	-.4542	-.1292
	rivaroksaban	.10584	.05651	.440	-.0566	.2683
	sham	.12430	.05651	.226	-.0382	.2868
sham	kontrol (I-R)	-.41602*	.05651	<.001	-.5785	-.2535
	rivaroksaban	-.01846	.05651	1.000	-.1809	.1440
	silostazol	-.12430	.05651	.226	-.2868	.0382

*. Ortalama fark 0.05 düzeyinde anlamlıdır.

Doku malondialdehit düzeyleri ortanca değerler ve standart sapmalar Tablo 12'de verilmiştir. Gruplar arasındaki farklar Tablo 13 ve Grafik 6'da gösterilmiştir. Çoklu karşılaştırmada doku MDA düzeyinin tüm gruplarda kontrol (I/R) grubuna göre önemli derecede düşük olduğu görülmüştür. Kontrol grubunun rivaroksaban grubu ($p<0.001$), sham grubu ($p<0.001$), silostazol grubu ($p<0.01$) ile arasındaki farkı istatistiksel olarak anlamlıdır. Rivaroksaban ve silostazol tedavi grupları arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

5.4. 8-OHdg



Grafik 7 : Kan 8-OHdg Düzeyleri

Tablo 14:Kan 8-OHdg Tanımlayıcı Değerler

Tanımlayıcı Veriler

8ohdg(ng/ml)

	N	Ortalama	Std. Sapma	Std. Hata	Ortalama için %95 Güven Aralığı		Minimum	Maximum
					Alt Sınır	Üst Sınır		
kontrol (I/R)	7	3.007649391	.1003641293	.0379340752	2.914828052	3.100470729	2.817903	3.127805
rivaroksaban	7	2.559610074	.1564334486	.0591262859	2.414933264	2.704286884	2.431124	2.843276
silostazol	7	2.685419733	.0681469316	.0257571191	2.622394333	2.748445133	2.568694	2.750643
sham	7	2.638854205	.1919867358	.0725641654	2.461296089	2.816412322	2.296194	2.885747
Total	28	2.722883351	.2168617687	.0409830221	2.638793135	2.806973566	2.296194	3.127805

Tablo 15:Kan 8-OHdg İstatistik

Çoklu Karşılaştırmalar

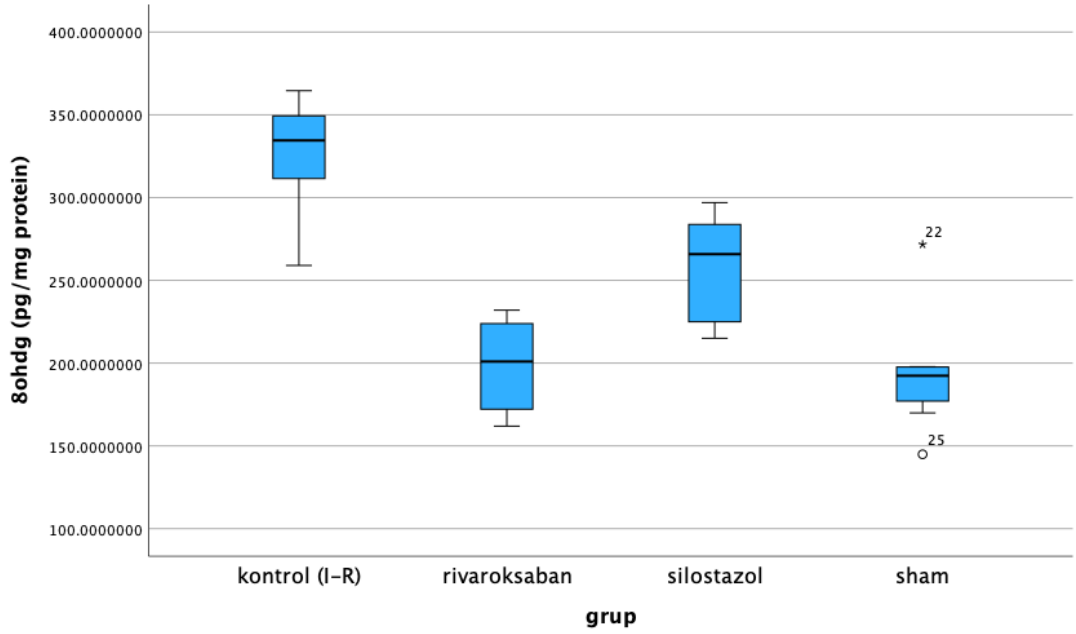
Bağımlı Değişken: 8-OHdg(ng/ml)

Bonferroni

		Ortalama Fark			95% Güven Aralığı	
(I) grup	(J) grup	(I-J)	Std. Hata	Sig.	Alt Sınır	Üst Sınır
kontrol (I/R)	rivaroksaban	.448039316*	.0737017606	<.001	.236139799	.659938834
	silostazol	.322229658*	.0737017606	.001	.110330141	.534129175
	sham	.368795185*	.0737017606	<.001	.156895668	.580694702
rivaroksaban	kontrol (I/R)	-.44803932*	.0737017606	<.001	-.659938834	-.236139799
	silostazol	-.125809658	.0737017606	.604	-.337709176	.086089859
	sham	-.079244131	.0737017606	1.000	-.291143649	.132655386
silostazol	kontrol (I/R)	-.32222966*	.0737017606	.001	-.534129175	-.110330141
	rivaroksaban	.1258096584	.0737017606	.604	-.086089859	.337709176
	sham	.0465655271	.0737017606	1.000	-165333990	.258465044
sham	kontrol (I/R)	-.36879519*	.0737017606	<.001	-.580694702	-.156895668
	rivaroksaban	.0792441313	.0737017606	1.000	-.132655386	.291143649
	silostazol	-.046565527	.0737017606	1.000	.258465044	.165333990

*. Ortalama fark 0.05 düzeyinde anlamlıdır.

Kan 8-OHdg düzeyleri ortanca değerler ve standart sapmalar Tablo 14'te verilmiştir. Gruplar arasındaki farklar Tablo 15 ve Grafik 7'de gösterilmiştir. Çoklu karşılaştırmada kan 8-OHdg düzeyinin tüm gruplarda kontrol (I/R) grubuna göre önemli derecede düşük olduğu görülmüştür. Kontrol grubunun rivaroksaban grubu ($p<0.001$), silostazol grubu ($p<0.001$) ve sham grubu ($p<0.001$) ile arasındaki farkı istatistiksel olarak anlamlıdır. Rivaroksaban ve silostazol tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur.



Grafik 8 : Doku 8-OHdg Düzeyleri

Tablo 16:Doku 8-OHdg Tanımlayıcı Değerler

Tanımlayıcı Veriler

8-OHdg (pg/mg protein)

	N	Ortalama	Std. Sapma	Std. Hata	Ortalama için %95 Güven Aralığı		Minimum	Maximum
					Alt Sınır	Üst Sınır		
kontrol (I-R)	7	325.668776	35.5245903	13.4270330	292.814010	358.523543	258.95703 09	364.58735 05
rivaroksaban	7	198.115169	29.9381301	11.3155495	170.427017	225.803322	161.89374 86	232.00399 87
silostazol	7	256.476659	34.2118137	12.9308501	224.836008	288.117309	215.01254 02	296.95088 42
sham	7	194.060932	39.0567378	14.7620593	157.939474	230.182390	144.90545 21	271.70558 84
Total	28	243.580384	63.5649421	12.0126449	218.932473	268.228295	144.90545 21	364.58735 05

Tablo 17: Doku 8-OHdg İstatistilk

Çoklu Karşılaştırmalar

Bağımlı Değişken: 8-OHdg (pg/mg protein)

Bonferroni

(I) grup	(J) grup	Ortalama Fark (I-J)	Std. Sapma	Sig.	95% Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
kontrol (I-R)	rivaroksaban	127.5536071143*	18.6205821340	<.001	74.017676201	181.089538027
	silostazol	69.1921178429*	18.6205821340	.006	15.656186930	122.728048756
	sham	131.6078447286*	18.6205821340	<.001	78.071913816	185.143775642
rivaroksaban	kontrol (I-R)	-127.5536071143*	18.6205821340	<.001	-181.089538027	-74.017676201
	silostazol	-58.3614892714*	18.6205821340	.027	-111.897420184	-4.825558358
	sham	4.0542376143	18.6205821340	1.000	-49.481693299	57.590168527
silostazol	kontrol (I-R)	-69.1921178429*	18.6205821340	.006	-122.728048756	-15.656186930
	rivaroksaban	58.3614892714*	18.6205821340	.027	4.825558358	111.897420184
	sham	62.4157268857*	18.6205821340	.016	8.879795973	115.951657799
sham	kontrol (I-R)	-131.6078447286*	18.6205821340	<.001	-185.143775642	-78.071913816
	rivaroksaban	-4.0542376143	18.6205821340	1.000	-57.590168527	49.481693299
	silostazol	-62.4157268857*	18.6205821340	.016	-115.951657799	-8.879795973

*. Ortalama fark 0.05 düzeyinde anlamlıdır.

Doku 8-OHdg düzeyleri ortanca değerler ve standart sapmalar Tablo 16'da verilmiştir. Gruplar arasındaki farklar Tablo 17 ve Grafik 8'de gösterilmiştir. Çoklu karşılaştırmada doku 8-OHdg düzeyinin tüm gruplarda kontrol (I/R) grubuna göre önemli derecede düşük olduğu görülmüştür. Kontrol grubunun rivaroksaban grubu ($p<0.001$), sham grubu ($p<0.001$), silostazol grubu ($p<0.06$) ile arasındaki farkı istatistiksel olarak anlamlıdır. Rivaroksaban ve silostazol tedavi grupları arasında anlamlı fark saptanmış olup rivaroksaban grubundaki 8-OHdg düzeyi daha düşüktür. ($p<0.027$)

6.TARTIŞMA

Dokuda iskemi periyodu boyunca ROS üretimi olur. Reperfüzyon sırasında bu ürünler endotelyal hasar, artmış mikrovasküler permeabilite ve doku ödemine yol açarlar. Bunun yanı sıra adhezyon molekülleri ve sitokinler multiorgan disfonksiyonu veya ölüme kadar gidebilen sistemik bir inflamatuar yanıt oluşmasına sebep olurlar(46). Bu olaylar zincirine I/R hasarı denir.

I/R hasarı kardiyak, vasküler ve transplantasyon cerrahilerinde önemli bir risk faktörü ve morbidite sebebidir. Akut bacak iskemisi sonrası gözlenen reperfüzyon durumu, kompartman sendromu, fasyatomi, ampütasyon ve hatta mortalite riskinde önemli derecede artışa sebep olmaktadır. Bunun yanı sıra akut bacak iskemisini takiben reperfüzyonda uzak organ hasarı oluştuğu bilinmektedir. Vasküler cerrahide abdominal aort cerrahisi, travma, ekstremitenin cerrahi revaskülarizasyonu, periferik arter hastalığı palyasyonunda anatomik veya ekstraanatomik bypass operasyonları sırasında vasküler klempaj sebebiyle ekstremite değişen sürelerde iskemiye maruz kalmaktadır. Bu hasta grupları için morbidite ve mortaliteyi önlemek amacıyla farklı antiagregan ve antikoagulan kombinasyonları gündeme gelmektedir.

Silostazol kronik periferik arter hastalığının semptomatik tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Silostazolün akut I/R hasarının iskelet kasındaki lokal ve sistemik olarak uç organ hasarını önlemedeki yeri tartışmalıdır. Gerek elektif gerekse acil revaskülarizasyon uygulanan periferik arter hastalığına sahip hastaların birçoğu halihazırda silostazol tedavisi altındadır. Silostazolün ek olarak antioksidan, antiinflamatuar ve antidiyabetik etkileri çeşitli deneysel modellerde farmakolojik olarak gösterilmiştir(47). Silostazol trombosit agregasyonunu engelleyerek ve vazodilatasyon yaratarak oksidatif stresi azaltabilir. Deneysel çalışmalarda silostazolün I/R hasarının end organ hasarını azalttığı yönünde bulgular elde edilmiştir(48). Bunun tersi olarak silostazolün I/R hasarı üzerine etkisinin olmadığını belirten deneysel çalışmalar da literatürde bulunmaktadır(6). Silostazolün iskelet kası üzerine lokal antioksidatif etkisi olup olmadığı üzerine çalışmalar literatürde eksiktir. Desai ve ark'larının yaptığı bir metaanalizde bugüne kadarki en büyük ve çeşitli hasta popülasyonu taranmış ve silostazolün aspirin ile birlikte kullanımının, endovasküler ve cerrahi revaskülarizasyon prosedürleri uygulanan ilerlemiş periferik

arter hastalığı ve kritik bacak iskemili hastalarında amputasyonsuz sağ kalım oranlarında ve greft/stent açık kalma oranlarında artış sağladığı gözlenmiştir(12). Ayrıca iskemik doku kaybı nedeniyle uygulanan revaskülarizasyon sonrasında silostazol kullanımının yara yeri iyileşmesinde olumlu etkisi olduğu gösterilmiştir(49).

Rivaroksaban arteriyel embolizmi önlemek için kullanılan bir yeni nesil oral antikoagulandır. Rivaroksabanın periferik arter hastalığında yeri daha önce belirttiğimiz gibi tartışmalıdır. Rivaroksabanın iskemik ekstremite tarafından indüklenen I/R hasarını engellemesi ile ilgili çeşitli raporlar bulunmaktadır(9). 6500 hastanın randomize edildiği VOYAGER PAD çalışmasında sadece aspirin kullanan gruptaki yaklaşık 5 hastadan 1'inde akut bacak iskemisi, vasküler nedenlere bağlı majör ampütasyon, miyokard enfarktüsü, iskemik inme, veya 3 yılda kardiyovasküler nedenlere bağlı ölüm gözlenmiştir. Buna karşılık aspirine günde iki kez 2.5 mg dozunda rivaroksaban eklenmesi bu riski yaklaşık %15 oranında azaltmıştır(50). Benzer şekilde COMPASS çalışmasında da rivaroksabanın tek başına ve rivaroksaban artı aspirinin beraber kullanımı ile tek başına aspirin kullanımı karşılaştırıldığında ekstremite ilişkili majör advers komplikasyonlarda belirgin azalma izlenmiştir. COMPASS-Lower Extremity PAD alt kolunda 4129 hasta incelenmiş, ekstremite ilişkili majör advers komplikasyon oranı tek başına aspirin kullanan grupta %3.4 iken rivaroksaban ile birlikte aspirin kullanan grupta bu oran %1.8 olarak görülmüştür(51).

2016 AHA/ACC Periferik arter hastalığı kılavuzunda aspirin ve klopidogrel ile dual antiplatelet tedavinin periferik arter hastalığında kardiyovasküler iskemik olay riskini azaltmadaki yerinin belirsiz olduğuna değinilmiştir. Bunun yanı sıra periferik arter hastalığında kardiyovasküler iskemik olay riskini azaltmada antikoagulasyonun yeri olmadığı ve alt ekstremite otolog ven veya prostetik greftin patensini sağlamak için antikoagulan kullanımının klinik pratikte yerinin belirsiz olduğuna değinilmiştir. Periferik arter hastalığı olan semptomatik veya revaskülarizasyon uygulanmış hastalarda güncel kılavuzlar aspirin veya klopidogrel ile monoterapi önermektedir(52). Buna rağmen periferik arter hastalığında

revaskülarizasyon sonrası ikili antiplatelet ve antiplatelet antikoagulan kombinasyonları kullanımı klinik pratikte yaygındır. Güncel veriler ışığında Türk Kalp ve Damar Cerrahisinin 2021 yılında yayınladığı Periferik Arter ve Ven Hastalığı Ulusal Tedavi Kılavuzunda yüksek riskli ekstremite veya eşlik eden yüksek riskli morbidite mevcut PAH hastalarında düşük doz rivaroksaban ve aspirin kullanımı çok güçlü öneri düzeyi ile önerilmektedir. Yine aynı kılavuzda infrainguinal revaskülarizasyon yapılan hastalarda sonuçları iyileştirmek üzere, antiagregan tedaviye ek olarak silostazol uygulanması, komplikasyon riski düşükse düşünülebilir şeklinde önerilmiştir(53). Günümüzde periferik arter hastalığında optimal medikal tedavi için net bir öneri olmamakla beraber klinisyenlerin hastaya özel bir tedavi modalitesi oluşturmaları önem taşımaktadır. Bu sebeple çalışmamızda bu iki molekülü ve klinik pratiği yansıtacak kısa iskemi süresini seçtik.

Teorik olarak kontrol (I/R) grubunda oksidan ürünlerin (GSSG, MDA, 8-OHdg) artışı ve antioksidan ürünlerin (GSH) tüketimi beklenmektedir. Çalışmamızda kan redükte glutayon (GSH) seviyesi kontrol (I/R) grubunda sham grubundan anlamlı olarak daha düşüktür($p<0.001$). Kan okside glutatyon (GSSG) seviyesi kontrol (I/R) grubunda sham grubundan anlamlı olarak yüksektir($p<0.001$). Kan MDA düzeyi kontrol grubunda sham grubundan anlamlı olarak yüksektir($p<0.006$). Kan 8-OHdg düzeyi kontrol grubunda sham grubundan anlamlı olarak yüksektir($p<0.001$). İskelet kası doku redükte glutatyon (GSH) seviyesi kontrol gurubunda sham grubundan anlamlı olarak daha düşüktür($p<0.012$). İskelet kası doku okside glutatyon (GSSG) seviyesi kontrol grubunda sham grubundan anlamlı olarak daha yüksektir($p<0.005$). İskelet kası doku MDA seviyesi kontrol grubunda sham grubundan anlamlı olarak daha yüksektir($p<0.001$). İskelet kası doku 8-OHdg seviyesi kontrol grubunda sham grubundan anlamlı olarak daha yüksektir($p<0.001$). Bu bulgular deneyimizde başarılı bir iskemi reperfüzyon modeli oluşturduğumuzu işaret etmektedir. Bilindiği kadarıyla bir dna baz hasarı belirteci olan 8-OHdg biomarkerının alt ekstremite iskemi-reperfüzyon modelinde oksidatif stres markerı olarak kullanıldığı başka bir çalışma yoktur. Çalışmamızda kısa süreli iskemi sonrası reperfüzyon sonucu dna baz hasarı oluştuğu ve 8-OHdg markerının bir belirteç olarak kullanılabileceğini gördük.

Çalışmamızda ikili karşılaştırmalarda kan GSH seviyesi rivaroksaban grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı olarak daha yüksektir($p<0.003$). Kan GSSG seviyesi rivaroksaban grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı olarak daha düşüktür($p<0.001$). Kan MDA seviyesi rivaroksaban grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı olarak daha düşüktür($p<0.010$). Kan 8-OHdg seviyesi rivaroksaban grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı olarak daha düşüktür($p<0.001$). Rivaroksabanın antioksidan ve antiapopitotik etkisi çalışmamıza göre belirgindir. Rivaroksaban grubunda kontrol grubuna kıyasla hem serum hem de dokuda tüm oksidan ürünlerde ve antioksidan ürün tüketiminde azalma gözlenmiştir. Demirtaş ve ark'larının yaptığı çeşitli antitrombotik ilaçların I/R üzerine koruyucu etkisini araştıran bir çalışmada da rivaroksabanın I/R modelinde lipid peroksidasyon ürünü olan MDA düzeylerini anlamlı olarak düşürdüğü görülmüştür ve bu bulgu bizim çalışmamızla ile benzerlik göstermektedir(54).

İskelet kası biyokimyasal incelemelerinde doku GSH seviyesi rivaroksaban grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı olarak daha yüksektir($p<0.041$). Doku GSSG seviyesi rivaroksaban grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı olarak daha düşüktür($p<0.04$). Doku MDA seviyesi rivaroksaban grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı olarak daha düşüktür($p<0.001$). Doku 8-OHdg seviyesi rivaroksaban grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı olarak daha düşüktür($p<0.001$). Özbudak ve ark'larının yaptığı bir çalışmada klopidogrel ve rivaroksaban ön tedavisinin iskemi reperfüzyon hasarı sonrası çeşitli dokular üzerine olan etkileri incelenmiş ve iskelet kasında rivaroksaban grubunda klopidogrel grubuna göre anlamlı derecede düşük MDA düzeyleri saptanmıştır(9). Aynı çalışmada diğer ilaçlara kıyasla sadece rivaroksabanın böbrek MDA düzeylerini anlamlı olarak düşürdüğü görülmüştür. Bu çalışmada bizim çalışmamıza benzer bulgular elde edilmiştir. Bu bulgular ışığında rivaroksabanın hem sistemik hem de iskelet kası dokusunda oksidatif strese karşı koruyucu etkisinin belirgin olduğu sonucuna ulaştık.

Kan GSH seviyesi silostazol grubunda ortalama olarak daha yüksek olsa da kontrol grubu ile arasında anlamlı farklılık göstermemiştir($p<1$). Kan GSSG seviyesi silostazol grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı olarak daha düşüktür($p<0.001$). Kan MDA seviyesi silostazol grubunda ortalama olarak daha düşük olsa da kontrol grubu ile arasında anlamlı farklılık göstermemiştir($p<0.316$). Kan 8-OHdg seviyesi

silostazol grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı olarak daha düşüktür($p<0.001$). Silostazol serum oksidan markerlarında parsiyel bir düşüşe sebep olmuştur. Dna baz hasarını önemli derecede önlemiştir.

İskelet kası biyokimyasal incelemelerinde doku GSH seviyesi silostazol ve kontrol grupları arasında anlamlı farklılık göstermemiştir($p<0.7$). Doku GSSG seviyesi silostazol grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı olarak daha düşüktür($p<0.015$). Doku MDA seviyesi silostazol grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı olarak daha düşüktür (p0.001). Doku 8-OHdg seviyesi silostazol grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı olarak daha düşüktür (p0.006). İnan B ve ark'larının 72 wistar rat üzerine yaptıkları bir deneyde femoral arter 2 saat süre ile klemplenmiş ve sonrasında reperfüzyon oluşturulmuştur. Silostazol tedavisi altında olan grupta serum ve doku oksidan markerları anlamlı olarak düşük bulunmuştur(55). Bu çalışmadaki bulgular çalışmamızla benzerlik göstermektedir. Silostazolün antioksidan etkisini proinflamutar sitokin (TNF-α), Interleukin 1 beta (IL-1β), Nuclear factor kappa B (NF-κB) regülasyonu ve fosfodiesteraz III inhibisyonu sonucu cAMP ve cGMP artışı yoluyla gösterdiği düşünülmektedir(56).

Silostazol ve rivaroksaban gruplarının ikili karşılaştırmalarında kan GSH seviyesi($p<0.065$), kan GSSG seviyesi($p<1$), kan MDA seviyesi($p<0.864$), kan 8-OHdg($p<0.604$) seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. Ancak ortalama değerlere bakıldığında rivaroksaban grubunda antioksidan ürün (GSH) tüketimi daha az, oksidan ürün (MDA, GSSG) üretimi daha düşük görülmüştür. Bu sebeple rivaroksabanın antioksidan etkileri silostazole göre daha üstün görülmektedir. İskelet kası doku GSSG seviyesi ve doku 8-OHdg seviyesi rivaroksaban grubunda silostazol grubuna kıyasla daha düşüktür (sırasıyla $p<0.007$ ve $p<0.027$). Bu bulgu iskemik kalan dokuda rivaroksabanın I/R hasarına karşın daha üstün bir koruyucu etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Özbudak ve ark'larının yaptığı bir çalışmada sıçan alt ekstremite I/R sonrasında klopidogrel ve rivaroksabanın etkileri karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada farklı reperfüzyon sürelerinde örnekler alınmış ve iskelet kası, böbrek, kalp, karaciğer dokuları ve plazmada belirli oksidatif stres ilişkili paramatreler incelenmiştir. Hem klopidogrel hem rivaroksabanın iskelet kası, kalp, karaciğer dokuları ve plazma MDA düzeylerini düşürdüğü görülmüştür. Böbrek dokusu MDA düzeyinin sadece rivaroksaban

grubunda düşük olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca rivaroksaban grubunun iskelet kası MDA düzeyi klopidogrel grubuna göre daha düşüktür. Bizim çalışmamızda da buna benzer olarak rivaroksabanın iskelet kası korumada daha etkili olduğu görülmüştür.

Bu veriler ışığında çalışmamıza göre hem silostazolün hem rivaroksabanın I/R'a karşı koruyucu etkilerinin olduğunu gözlemledik. Bununla beraber rivaroksabanın hem kan hem iskelet kası biyokimyasal çalışmalarında silostazole göre daha üstün bir koruyucu etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.

7.SONUÇ

Periferik arter hastalığında özellikle revaskülarizasyon sonrasında tercih edilen ilaçlar pratikte değişkenlik göstermektedir. Çalışmamızda kalp ve damar cerrahisi pratiğinde periferik arter hastalığı tedavisinde yeri olan silostazol ve periferik arter hastalığı tedavisinde gündemde olan rivaroksabanın I/R hasarına karşı hem sistemik hem iskelet kası düzeyinde korumada etkilerinin olup olmadığını ve birbirlerine olan üstünlüklerini araştırdık. Çalışmamızda 1 saatlik kısa bir iskemi süresinin bile iskelet kasında ve serumda oksidatif hasar belirteçlerinde anlamlı bir artış yarattığını ve dna baz hasarını geliştirdiğini belirledik. Çalışmamızın sonucuna göre her iki molekülün de I/R'un oksidan etkilerine karşı hem serumda hem de iskelet kasında belli düzeyde savunma yarattığını gözlemledik. Biyokimyasal verilerin istatiksel karşılaştırmalarına göre silostazol daha parsiyel bir antioksidatif etki gösterdi. Dna baz hasarı belirteci olan 8-OHdg markerı rivaroksaban grubunda silostazol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır. Rivaroksabanın özellikle iskemik kalmış iskelet kasında silostazole göre daha üstün bir koruma sağladığı görüldü.

Klinik pratikte periferik arter hastalığında ekstremite ilişkili komplikasyon oranını azaltmak için kullanılacak koruyucu tedavi modalitelerine ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmamızın tedavi seçimi konusunda yapılacak klinik çalışmalara yol gösterici olabileceğini düşünmekteyiz.

8.KAYNAKÇA

1. Fowkes FGR, Rudan D, Rudan I, Aboyans V, Denenberg JO, McDermott MM, vd. Comparison of global estimates of prevalence and risk factors for peripheral artery disease in 2000 and 2010: A systematic review and analysis. The Lancet. 2013;382(9901):1329-40.
2. Sigvant B, Hasvold P, Kragsterman B, Falkenberg M, Johansson S, Thuresson M, vd. Cardiovascular outcomes in patients with peripheral arterial disease as an initial or subsequent manifestation of atherosclerotic disease: Results from a Swedish nationwide study. J Vasc Surg. 01 Ağustos 2017;66(2):507-514.e1.
3. Blaisdell FW. The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review [Internet]. C. 10, Cardiovascular Surgery. 2002. Erişim adresi: www.elsevier.com/locate/cardiosur
4. Plouin F, Ribichini F, Ricco JB, Ruilope L, Schmid JP. Gábor Ké smárky [Internet]. Christiane Tiefenbacher. Erişim adresi: https://academic.oup.com/eurheartj/article/32/22/2851/434690
5. Akyürek S, Yildiz F, Cengiz M, Onal C, Yildiz O, Genc M, vd. Importance of timing of antiaggregant treatment in the prevention of radiation induced enteropathy. Med Hypotheses. 2005;65(4):736-9.
6. Augusto A, Neto M, Sebastião De Souza S, Ii J, Luíza V, Iii C, vd. Effects of cilostazol in kidney and skeletal striated muscle of Wistar rats submitted to acute ischemia and reperfusion of hind limbs 1 Efeitos do cilostazol em rim e musculatura estriada esquelética de ratos Wistar submetidos à isquemia aguda e reperfusão de membros posteriores. C. 27, Acta Cirúrgica Brasileira.
7. Manduteanu I, Dragomir E, Voinea M, Capraru M, Simionescu M. Enoxaparin reduces H2O2-induced activation of human endothelial cells by a mechanism involving cell adhesion molecules and nuclear transcription factors. Pharmacology. 2007;79(3):154-62.
8. Capell WH, Bonaca MP, Nehler MR, Chen E, Kittelson JM, Anand SS, vd. Rationale and design for the Vascular Outcomes study of ASA along with rivaroxaban in endovascular or surgical limb revascularization for peripheral artery disease (VOYAGER PAD). Am Heart J. 01 Mayıs 2018;199:83-91.
9. Özbudak E, Eraldemir FC, Arikan AA, Şahin D, Kir HM, Kurt T, vd. An evaluation of rivaroxaban and clopidogrel in a rat lower extremity ischemia-reperfusion model: An experimental study. Turkish Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. 2019;27(4):513-20.
10. Hiatt WR, Money SR, Brass EP. Long-term safety of cilostazol in patients with peripheral artery disease: The CASTLE study (Cilostazol: A Study in Long-term Effects). J Vasc Surg. 2008;47(2).
11. Ishiwata N, Noguchi K, Kawanishi M, Asakura Y, Hori M, Mitani A, vd. NT-702 (parogrelil hydrochloride, NM-702), a novel and potent phosphodiesterase inhibitor, improves reduced walking distance and lowered hindlimb plantar surface temperature in a rat experimental intermittent claudication model. Life Sci. 01 Eylül 2007;81(12):970-8.
12. Desai K, Han B, Kuziez L, Yan Y, Zayed MA. Literature review and meta-analysis of the efficacy of cilostazol on limb salvage rates after infrainguinal endovascular and open revascularization. J Vasc Surg [Internet]. 2021;73(2):711-721.e3. Erişim adresi: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0741521420320115
13. Iida O, Yokoi H, Soga Y, Inoue N, Suzuki K, Yokoi Y, vd. Cilostazol Reduces Angiographic Restenosis After Endovascular Therapy for Femoropopliteal Lesions in

the Sufficient Treatment of Peripheral Intervention by Cilostazol Study. Circulation [Internet]. 2013;127(23):2307-15. Erişim adresi: https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/CIRCULATIONAHA.112.000711
14. Tsikas D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. Anal Biochem. 01 Mayıs 2017;524:13-30.
15. Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. Alexandria Journal of Medicine. 01 Aralık 2018;54(4):287-93.
16. di Minno A, Turnu L, Porro B, Squellerio I, Cavalca V, Tremoli E, vd. 8-Hydroxy-2-Deoxyguanosine Levels and Cardiovascular Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis of the Literature. C. 24, Antioxidants and Redox Signaling. Mary Ann Liebert Inc.; 2016. s. 548-55.
17. Aftab M, Coselli JS. Renal and visceral protection in thoracoabdominal aortic surgery. Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. 01 Aralık 2014;148(6):2963-6.
18. Babbitt DG, Virmani R, Forman MB. Intracoronary Adenosine Administered After Reperfusion Limits Vascular Injury After Prolonged Ischemia in the Canine Model [Internet]. Erişim adresi: http://ahajournals.org
19. Wu MY, Yiang GT, Liao WT, Tsai APY, Cheng YL, Cheng PW, vd. Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury. C. 46, Cellular Physiology and Biochemistry. S. Karger AG; 2018. s. 1650-67.
20. Halestrap AP, Pasdois P. The role of the mitochondrial permeability transition pore in heart disease. C. 1787, Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics. 2009. s. 1402-15.
21. Collard CD, Vä A, Morrissey MA, Agah A, Rollins SA, Reenstra WR, vd. Complement Activation after Oxidative Stress Role of the Lectin Complement Pathway.
22. Wajant H, Pfizenmaier K, Scheurich P. Tumor necrosis factor signaling. C. 10, Cell Death and Differentiation. 2003. s. 45-65.
23. Perrelli MG. Ischemia/reperfusion injury and cardioprotective mechanisms: Role of mitochondria and reactive oxygen species. World J Cardiol. 2011;3(6):186.
24. Norgren L, Hiatt WR, Dormandy JA, Nehler MR, Harris KA, Fowkes FGR. Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II). C. 45, Journal of Vascular Surgery. 2007.
25. Korabathina R, Weintraub AR, Price LL, Kapur NK, Kimmelstiel CD, Iafrati MD, vd. Twenty-year analysis of trends in the incidence and in-hospital mortality for lower-extremity arterial thromboembolism. Circulation. 09 Temmuz 2013;128(2):115-21.
26. Gillani S, Cao J, Suzuki T, Hak DJ. The effect of ischemia reperfusion injury on skeletal muscle. C. 43, Injury. 2012. s. 670-5.
27. Björck M, Earnshaw JJ, Acosta S, Gonçalves FB, Cochennec F, Debus SE, vd. Editor's Choice – European Society for Vascular Surgery (ESVS) 2020 Clinical Practice Guidelines on the Management of Acute Limb Ischaemia. European Journal of Vascular and Endovascular Surgery. 01 Şubat 2020;59(2):173-218.
28. Baril DT, Ghosh K, Rosen AB. Trends in the incidence, treatment, and outcomes of acute lower extremity ischemia in the United States Medicare population. J Vasc Surg. 2014;60(3).

29. Grip O, Wanhainen A, Michaëlsson K, Lindhagen L, Björck M. Open or endovascular revascularization in the treatment of acute lower limb ischaemia. British Journal of Surgery. 01 Kasım 2018;105(12):1598-606.
30. Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. Mol Cell Biochem. Kasım 2004;266(1/2):37-56.
31. Yin B, Whyatt RM, Perera FP, Randall MC, Cooper TB, Santella RM. Determination of 8-hydroxydeoxyguanosine by an immunoaffinity chromatography-monoclonal antibody-based ELISA. Free Radic Biol Med. Haziran 1995;18(6):1023-32.
32. VALAVANIDIS A, VLACHOGIANNI T, FIOTAKIS C. 8-hydroxy-2' -deoxyguanosine (8-OHdg): A Critical Biomarker of Oxidative Stress and Carcinogenesis. Journal of Environmental Science and Health, Part C. 07 Mayıs 2009;27(2):120-39.
33. Kroese LJ, Scheffer PG. 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine and Cardiovascular Disease: a Systematic Review. Curr Atheroscler Rep [Internet]. 2014;16(11):452. Erişim adresi: https://doi.org/10.1007/s11883-014-0452-y
34. Uchida K. Role of reactive aldehyde in cardiovascular diseases. Free Radic Biol Med [Internet]. 2000;28(12):1685-96. Erişim adresi: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0891584900002264
35. Voitkun V, Zhitkovich A. Analysis of DNA–protein crosslinking activity of malondialdehyde in vitro. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis [Internet]. 1999;424(1):97-106. Erişim adresi: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0027510799000111
36. Palinski W, Ord VA, Plump AS, Breslow JL, Steinberg D, Witztum JL. ApoE-deficient mice are a model of lipoprotein oxidation in atherogenesis. Demonstration of oxidation-specific epitopes in lesions and high titers of autoantibodies to malondialdehyde-lysine in serum. Arterioscler Thromb. Nisan 1994;14(4):605-16.
37. Slatter DA, Bolton CH, Bailey AJ. The importance of lipid-derived malondialdehyde in diabetes mellitus. Diabetologia [Internet]. 2000;43(5):550-7. Erişim adresi: https://doi.org/10.1007/s001250051342
38. Gonenc A, Ozkan Y, Torun M, Simsek B. Plasma malondialdehyde (MDA) levels in breast and lung cancer patients. J Clin Pharm Ther. Nisan 2001;26(2):141-4.
39. Bakan E. Nitric Oxide Levels and Lipid Peroxidation in Plasma of Patients with Gastric Cancer. Jpn J Clin Oncol. 01 Mayıs 2002;32(5):162-6.
40. Martín-Gallán P, Carrascosa A, Gussinyé M, Domínguez C. Biomarkers of diabetes-associated oxidative stress and antioxidant status in young diabetic patients with or without subclinical complications. Free Radic Biol Med. Haziran 2003;34(12):1563-74.
41. Gaetani G, Galiano S, Canepa L, Ferraris A, Kirkman H. Catalase and glutathione peroxidase are equally active in detoxification of hydrogen peroxide in human erythrocytes. Blood. 01 Ocak 1989;73(1):334-9.
42. Iwasaki Y, Saito Y, Nakano Y, Mochizuki K, Sakata O, Ito R, vd. Chromatographic and mass spectrometric analysis of glutathione in biological samples. Journal of Chromatography B [Internet]. 2009;877(28):3309-17. Erişim adresi: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1570023209004772
43. Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. C. 52, Clinical Chemistry. 2006. s. 601-23.
44. Lee SG, Yim J, Lim Y, Kim JH. Validation of a liquid chromatography tandem mass spectrometry method to measure oxidized and reduced forms of glutathione in whole blood and verification in a mouse model as an indicator of oxidative stress. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 15 Nisan 2016;1019:45-50.

45. Rosero O, Németh K, Turóczi Z, Fülöp A, Garbaisz D, Győrffy A, vd. Collateral circulation of the rat lower limb and its significance in ischemia–reperfusion studies. Surg Today. 01 Aralık 2014;44(12):2345-53.
46. Blaisdell FW. The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review [Internet]. C. 10, Cardiovascular Surgery. 2002. Erişim adresi: www.elsevier.com/locate/cardiosur
47. He P, Kawamura H, Takemoto M, Maezawa Y, Ishikawa T, Ishibashi R, vd. Combination of cilostazol and probucol protected podocytes from lipopolysaccharide-induced injury by both anti-inflammatory and anti-oxidative mechanisms. J Nephrol [Internet]. 2017;30(4):531-41. Erişim adresi: https://doi.org/10.1007/s40620-016-0361-y
48. Fukasawa M, Nishida H, Sato T, Miyazaki M, Nakaya H. 6-[4-(1-Cyclohexyl-1H-tetrazol-5-yl)butoxy]-3,4-dihydro-2-(1H)quinolinone (Cilostazol), a Phosphodiesterase Type 3 Inhibitor, Reduces Infarct Size via Activation of Mitochondrial Ca²⁺-Activated K⁺ Channels in Rabbit Hearts. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics [Internet]. 01 Temmuz 2008;326(1):100. Erişim adresi: http://jpet.aspetjournals.org/content/326/1/100.abstract
49. Mii S, Guntani A, Kawakubo E, Tanaka K, Kyuragi R. Cilostazol Improves Wound Healing in Patients Undergoing Open Bypass for Ischemic Tissue Loss: A Propensity Score Matching Analysis. Ann Vasc Surg [Internet]. 2018;49:30-8. Erişim adresi: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0890509618300918
50. Bonaca MP, Bauersachs RM, Anand SS, Debus ES, Nehler MR, Patel MR, vd. Rivaroxaban in Peripheral Artery Disease after Revascularization. New England Journal of Medicine. 21 Mayıs 2020;382(21):1994-2004.
51. Anand SS, Bosch J, Eikelboom JW, Connolly SJ, Diaz R, Widimsky P, vd. Rivaroxaban with or without aspirin in patients with stable peripheral or carotid artery disease: an international, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. The Lancet. 20 Ocak 2018;391(10117):219-29.
52. Gerhard-Herman MD, Gornik HL, Barrett C, Barshes NR, Corriere MA, Drachman DE, vd. 2016 AHA/ACC Guideline on the Management of Patients With Lower Extremity Peripheral Artery Disease: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. Circulation [Internet]. 21 Mart 2017;135(12):e686-725. Erişim adresi: https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000470
53. Kürşat Bozkurt A. PERİFERİK ARTER VE VEN HASTALIKLARI ULUSAL TEDAVİ KILAVUZU 2016 Editör Türk Kalp Damar Cerrahisi Derneği Ulusal Vasküler ve Endovasküler Cerrahi Derneği Fleboloji Derneği [Internet]. Erişim adresi: www.egebasim.com.tr
54. Demirtas S, Karahan O, Yazici S, Guclu O, Caliskan A, Tezcan O, vd. Investigation of possible prophylactic, renoprotective, and cardioprotective effects of thromboprophylactic drugs against ischemia-reperfusion injury. Kaohsiung Journal of Medical Sciences. 01 Mart 2015;31(3):115-22.
55. İNAN B, SÖNMEZ ERGÜN S, NURTEN A, KÜÇÜKGERGİN C, ZENGİN TÜRKMEN A, SEÇKİN Ş, vd. Effects of Cilostazol and Diltiazem Hydrochloride on Ischemia-Reperfusion Injury in a Rat Hindlimb Model. Heart Surg Forum. 29 Nisan 2017;20(2):058.
56. Abdel-Aziz AM, Rifaai RA, Abdel-Gaber SA. Possible mechanisms mediating the protective effect of cilostazol in L-arginine induced acute pancreatitis in rats: role of

cGMP, cAMP, and HO-1. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol [Internet]. 2020;393(10):1859-70. Erişim adresi: https://doi.org/10.1007/s00210-020-01897-z